

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE QUIMICA ANALITICA Y  
ANALISIS INSTRUMENTAL**



**DESARROLLO DE NUEVOS SENSORES  
POTENCIOMÉTRICOS PARA METALES  
BASADOS EN RECEPTORES CON GRUPOS  
TIO Y DITIO**

**MARIA JESUS GISMERA GARCIA**

Madrid, Junio 2006



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ANALITICA Y  
ANALISIS INSTRUMENTAL



**DESARROLLO DE NUEVOS SENSORES  
POTENCIOMÉTRICOS PARA METALES  
BASADOS EN RECEPTORES CON GRUPOS  
TIO Y DITIO**

Memoria que presenta la licenciada  
**MARÍA JESÚS GISMERA GARCÍA**  
para optar al grado de Doctor en  
Ciencias (Químicas).





**Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental  
Universidad Autónoma de Madrid**

**JESUS RODRIGUEZ PROCOPIO**, Doctor en Ciencias Químicas, Profesor Titular de Universidad en el Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental de la Universidad Autónoma de Madrid

**INFORMA:**

Que el trabajo descrito en la presente memoria, titulado “**DESARROLLO DE NUEVOS SENSORES POTENCIOMÉTRICOS PARA METALES BASADOS EN RECEPTORES CON GRUPOS TIO Y DITIO**”, ha sido desarrollado bajo mi dirección por **D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> JESUS GISMERA GARCÍA** en el Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental de la Universidad Autónoma de Madrid. También hace constar que el trabajo descrito en ella reúne, en su opinión, todos los requisitos para su defensa y aprobación, por lo que, como director y tutor del trabajo de investigación, **autoriza su presentación** para que se defienda como Tesis Doctoral.

Y para que conste firma el presente documento en Madrid a 5 de mayo de dos mil seis.

Fdo. Jesús Rodríguez Procopio

V. B. del Departamento

Director del Departamento  
Química Analítica y Análisis Instrumental



*A mis padres y hermanos, y a Jose*





Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todos aquellos que, de una manera u otra, han contribuido a la realización de esta memoria:

Al Dr. Jesús Rodríguez Procopio, director de esta Tesis, por su apoyo, confianza y dedicación, sin los cuales, no hubiese sido posible la realización de este trabajo.

A la Dra. M<sup>a</sup> Teresa Sevilla Escribano por sus consejos y aportaciones científicas, y especialmente, por su apoyo y amistad durante todo este tiempo.

A todos los profesores del Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental, por haber contribuido a mi formación profesional y científica a lo largo de estos años.

A mis compañeros de laboratorio y también amigos, Elena, Ana, Mónica, Alberto, Rodolfo, Pilar y Mamen, sin olvidarme de los estuvieron de paso Marga, Javi y Charo con quienes he compartido muy buenos momentos tanto fuera como dentro del laboratorio. Gracias por vuestros ánimos en todo momento.

Al resto de integrantes del grupo de investigación, David, Sandra, Raúl y Elsa, por su ayuda, y al resto de personas con quienes he ido compartiendo el laboratorio a lo largo de todos estos años, cuyos nombres no me atrevo a poner por miedo a cometer olvidos.

A las personas que siempre han estado a mi lado, en especial a mis padres, a mis hermanos y a Jose, por su comprensión y apoyo incondicional, y por hacerme ver las cosas desde otro punto de vista.

A mis amigos, los de siempre, por todo lo que hemos compartido, ya que de alguna manera me ha ayudado en la realización de este trabajo.

A la Comunidad Autónoma de Madrid y a la DGICYT por la financiación de los proyectos nº 07M/0015/1999, nº PB970037 y nº BQU2001-0151.



## ÍNDICE



	Página
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<hr/>	
<b>I. 1. SENSORES POTENCIOMÉTRICOS.....</b>	<b>3</b>
<b>I. 2. SENSORES POTENCIOMÉTRICOS DE METALES.....</b>	<b>8</b>
<b>I. 2.1. Interés de algunos metales como contaminantes.....</b>	<b>8</b>
<b>I. 2.2. Sensores potenciométricos de cobre.....</b>	<b>11</b>
<b>I. 2.3. Sensores potenciométricos de plomo.....</b>	<b>13</b>
<b>I. 2.4. Sensores potenciométricos de mercurio.....</b>	<b>15</b>
<b>I. 3. SENSORES MODIFICADOS DE PASTA DE CARBÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>I. 4. ANTECEDENTES DE LAS REACCIONES ENTRE LOS COMPUESTOS SELECCIONADOS COMO RECEPTORES DE LOS SENSORES Y LOS METALES EN DISOLUCIÓN.....</b>	<b>20</b>
<b>I. 4.1. Interacciones en disolución del ácido tiosalicílico con los metales.....</b>	<b>21</b>
<b>I. 4.2. Interacciones en disolución del ácido ditiosalicílico con los metales.....</b>	<b>23</b>
 <b>II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO</b>	 <b>25</b>
<hr/>	
<b>II. 1. OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
<b>II. 2. PLAN DE TRABAJO.....</b>	<b>28</b>

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

**31**

---

<b>III. 1. REACTIVOS E INSTRUMENTACIÓN.....</b>	<b>33</b>
<b>III. 1.1. Reactivos.....</b>	<b>33</b>
<b>III. 1.2. Preparación de las disoluciones de patrones y electrolitos.....</b>	<b>33</b>
<b>III. 1.3. Preparación de las disoluciones de los ácidos húmicos.....</b>	<b>34</b>
<b>III. 1.4. Instrumentación.....</b>	<b>35</b>
 <b>III. 2. PREPARACIÓN DE LOS SENSORES.....</b>	 <b>37</b>
<b>III. 3. MEDIDA DEL POTENCIAL.....</b>	<b>39</b>
<b>III. 3.1. Medidas potenciométricas para el análisis de mezclas.....</b>	<b>40</b>
<b>III. 4. ANÁLISIS DE LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES     POTENCIOMÉTRICOS MEDIANTE SEM-EDAX.....</b>	<b>42</b>
<b>III. 5. MEDIDAS VOLTAMPEROMÉTRICAS PARA EL CÁLCULO DE LA     CONSTANTES DE FORMACIÓN DE LOS COMPLEJOS EN LA     SUPERFICIE DE LOS SENSORES.....</b>	<b>44</b>
<b>III. 6. VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS.....</b>	<b>46</b>
<b>III. 6.1. Metodología de la valoración potenciométrica de los ligandos         receptores.....</b>	<b>46</b>
<b>III. 6.2. Metodología de la valoración potenciométrica de los cationes         metálicos con AEDT.....</b>	<b>46</b>
<b>III. 6.3. Metodología de la valoración potenciométrica de los ácidos húmicos..</b>	<b>47</b>
III. 6.3.1. Cálculo del peso equivalente de los ácidos húmicos.....	47
III. 6.3.2. Estimación de las constantes de interacción metal-ácido húmico...	48
 <b>III. 7. PREPARACIÓN Y ANÁLISIS DE MUESTRAS.....</b>	 <b>50</b>
<b>III. 7.1. Aceites lubricantes residuales.....</b>	<b>50</b>
<b>III. 7.2. Aleación de plomo-estaño.....</b>	<b>51</b>

---

<b>IV. 1. DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS SENSORES.....</b>	<b>55</b>
<b>IV. 1.1. Influencia de la composición de los sensores sobre la respuesta a los iones ensayados.....</b>	<b>55</b>
<b>IV. 1.2. Mecanismo del proceso electródico.....</b>	<b>61</b>
<b>IV. 1.3. Dependencia de la respuesta potenciométrica con el pH.....</b>	<b>68</b>
IV. 1.3.1. Cálculo de las constantes ácido-base de los ligandos.....	68
IV. 1.3.2. Variación del valor del potencial con el pH de la disolución de medida.....	70
<b>IV. 1.4. Respuesta potenciométrica de los sensores en función de la actividad de los iones metálicos.....</b>	<b>76</b>
<b>IV. 1.5. Tiempo de respuesta.....</b>	<b>80</b>
<b>IV. 1.6. Límites de detección.....</b>	<b>82</b>
<b>IV. 1.7. Estabilidad y reproducibilidad de la respuesta potenciométrica de los sensores.....</b>	<b>89</b>
<b>IV. 1.8. Selectividad de los sensores.....</b>	<b>91</b>
IV. 1.8.1. Método de las disoluciones separadas ( <i>Separated Solution Method</i> SSM).....	92
IV. 1.8.2. Método de las disoluciones conjuntos ( <i>Mixed Solution Method</i> MSM).....	93
IV. 1.8.3. Método de la igualación de potenciales ( <i>Matched Potencial Method</i> MPM).....	93
IV. 1.8.4. Comparación de los métodos de cálculo de los coeficientes de selectividad.....	94
 <b>IV. 2. CARACTERIZACIÓN DE LAS ESPECIES QUÍMICAS FORMADAS EN LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES.....</b>	 <b>104</b>
<b>IV. 2.1. Caracterización de las especies químicas formadas en la superficie de los sensores mediante SEM-EDAX.....</b>	<b>105</b>
<b>IV. 2.2. Análisis de los sólidos de los complejos de mercurio con los ligandos DTS y TS en disolución.....</b>	<b>124</b>

<b>IV. 2.3. Cálculo de las constantes de formación de los complejos en la superficie de los sensores. Cinética de las reacciones.....</b>	<b>128</b>
IV. 2.3.1. Comportamiento voltamperométrico de los complejos en la superficie de los sensores.....	132
IV. 2.3.2. Cinética de las reacciones de formación de los complejos en la superficie de los sensores.....	138
IV. 2.3.3. Constantes condicionales de formación de los complejos en la superficie de los sensores.....	142
<b>IV. 2.4. Posibles estructuras de los complejos formados en la superficie de los sensores.....</b>	<b>147</b>

## **V. APLICACIONES 151**

---

<b>V. 1. POTENCIOMETRÍA DIRECTA.....</b>	<b>153</b>
<b>V. 1.1. Determinación de cobre en aceites lubricantes.....</b>	<b>154</b>
V. 1.1.1. Características de la muestra.....	154
V. 1.1.2. Análisis de aceites lubricantes residuales.....	155
<b>V. 1.2. Determinación de plomo en aleaciones de soldadura.....</b>	<b>156</b>
<b>V. 2. VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS.....</b>	<b>158</b>
<b>V. 2.1. Valoraciones potenciométricas de los cationes metálicos con AEDT... 158</b>	
<b>V. 2.2. Caracterización de la interacción entre especies metálicas y ácidos húmicos.....</b>	<b>162</b>
V. 2.2.1. Naturaleza de los ácidos húmicos.....	163
V. 2.2.2. Caracterización de los ácidos húmicos mediante análisis elemental.....	166
V. 2.2.3. Cálculo del peso equivalente de los ácidos húmicos.....	167
V. 2.2.4. Valoración potenciométrica de los ácidos húmicos. Cálculo de las constantes de estabilidad.....	169
<b>V. 3. ANÁLISIS POTENCIOMÉTRICO POR INYECCIÓN EN FLUJO.....</b>	<b>189</b>
<b>V. 3.1. Análisis potenciométrico en continuo.....</b>	<b>189</b>
<b>V. 3.2. Componentes del sistema de análisis potenciométrico en continuo.....</b>	<b>190</b>



<b>V. 3.3. Empleo del sensor TETDS en el análisis potenciométrico en continuo de los iones cobre (II).....</b>	<b>192</b>
V. 3.3.1. Optimización de los parámetros de flujo.....	192
V. 3.3.2. Intervalo lineal, sensibilidad y selectividad de la respuesta al cobre (II) del sensor TETDS en FIP.....	195
V. 3.3.3. Aplicaciones del sensor TETDS en el análisis de cobre (II) mediante FIP.....	199
<b>V. 4. EMPLEO DE LOS SENSORES POTENCIOMÉTRICOS EN SISTEMAS MULTISENORES.....</b>	<b>205</b>
<b>V. 4.1. Introducción.....</b>	<b>205</b>
V. 4.1.1. Dispositivos potenciométricos en sistemas multisensores.....	207
V. 4.1.2. Análisis multivariante.....	207
<b>V. 4.2. Objeto de estudio.....</b>	<b>208</b>
<b>V. 4.3. Estrategias de modelado.....</b>	<b>209</b>
V. 4.3.1. Modelo de mínimos cuadrados parciales (PLS).....	209
V. 4.3.2. Modelo de redes neuronales (ANN).....	210
<b>V. 4.4. Análisis de mezclas.....</b>	<b>211</b>
V. 4.4.1. Sensibilidad de la respuesta de los sensores en mezclas de cobre y mercurio.....	211
V. 4.4.2. Análisis realizados con las superficies de los sensores renovadas.	214
V. 4.4.3. Análisis realizados con las superficies de los sensores activadas..	219
 <b>VI. CONCLUSIONES</b>	 <b>223</b>
 <b>VII. BIBLIOGRAFÍA</b>	 <b>231</b>



## **I. INTRODUCCIÓN**



Los sensores químicos representan un área muy interesante y en expansión dentro de la investigación en Química Analítica, especialmente indicada para medidas *in situ*. Están formados por dos partes bien diferenciadas: un elemento de reconocimiento molecular o iónico (receptor) que interacciona selectivamente con un determinado componente de la muestra (analito) y un elemento instrumental (transductor) que traduce la interacción en una señal procesable. Esta configuración tan simple permite el diseño de sensores caracterizados por pequeñas dimensiones, bajo coste, fácil utilización y generación de la información en tiempo real.

Si la señal procedente de la interacción electroquímica entre el analito y el sensor es una señal eléctrica útil podemos denominar estos instrumentos como sensores electroquímicos. Comparados con otros tipos de sensores, los electroquímicos son dispositivos muy simples y fácilmente miniaturizables, lo que permite hacer medidas en pequeños volúmenes de muestras o en zonas de dimensiones reducidas. Además, presentan un intervalo de respuesta más amplio que la mayoría de los sensores químicos basados en otros principios y unos límites de detección suficientes para la mayor parte de las muestras de interés analítico. Dentro de este grupo de sensores electroquímicos se encuentran los sensores potenciométricos [1].

## **I. 1. SENSORES POTENCIOMÉTRICOS.**

Se denominan sensores potenciométricos aquellos en los cuales la señal primaria, fruto de la interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento, es un potencial eléctrico, cuya medida se realiza normalmente a intensidad nula y frente a un elemento adicional denominado electrodo de referencia [1]. El gran desarrollo y aceptación de estos sensores se debe a la posibilidad de realizar medidas directas o actuar como electrodos indicadores en valoraciones, sin tener en cuenta el color o la turbidez de la muestra, sin afectar a la

disolución de análisis, y el hecho de que tales determinaciones requieran equipamientos relativamente baratos y portátiles [1, 2].

Todas las ramas de la ciencia se han beneficiado de la disponibilidad comercial, versatilidad y facilidad de operación de los sensores potenciométricos. Se han utilizado en análisis de rutina en investigaciones médicas en la saliva, fluidos cerebroespinales, suero, orina, sudor, etc. Estos sensores también son muy útiles para procesos de control de calidad en la industria farmacéutica (drogas, jabones y pastas de dientes) y de comestibles (productos lácteos, cereales, azúcar, bebidas y caramelos), y para ensayos minerales de rocas, arcillas y otros procesos de refinado, residuos industriales y mineros. Otras aplicaciones industriales importantes implican baños de electrochapado, estampado en madera, pinturas, pigmentos, algicidas, fungicidas, pesticidas, fertilizantes, cerámicas, vidrio, fotografía, explosivos, emisión de gases por chimenea, tabaco, plásticos, resinas y aceites lubricantes [1, 3, 4].

Los sensores potenciométricos también tienen aplicaciones en el análisis de aguas de ríos, estuarios, lagos, aguas residuales, fangos y lodos. En los análisis de estas aguas tienen gran importancia los sensores de fluoruro, nitrato y amonio. Además, en los últimos años han surgido electrodos de enzimas que han causado un gran impacto en los análisis de rutina de aguas y pueden encontrar grandes aplicaciones en el control de la contaminación [3-5].

Otro gran número de sensores potenciométricos han encontrado aplicaciones en trabajos de investigación básica. Así, se han estudiado coeficientes de actividad, reacciones de complejación y constantes de estabilidad y se han realizado valoraciones potenciométricas. Por ejemplo, se puede detectar el punto final de la valoración del aluminio con plomo o bario usando un sensor potenciométrico de plomo o bario, o el punto final de la valoración de fosfato con plomo usando un sensor potenciométrico de plomo [3-5].

Los sensores potenciométricos también se han empleado para realizar determinaciones en continuo, así se ha combinado la detección potenciométrica con la cromatografía iónica, la cromatografía en columna abierta y la electroforesis capilar [6].

En los últimos años se ha experimentando un importante cambio en el desarrollo de estos sensores, pasando del uso de sensores selectivos a un determinado analito, a la utilización de un conjunto de sensores más o menos selectivos, o sensores con sensibilidad cruzada ('cross sensitivity'). De esta forma puede realizarse la determinación de múltiples componentes en una misma muestra mediante el empleo de las denominadas lenguas electrónicas [1, 7].

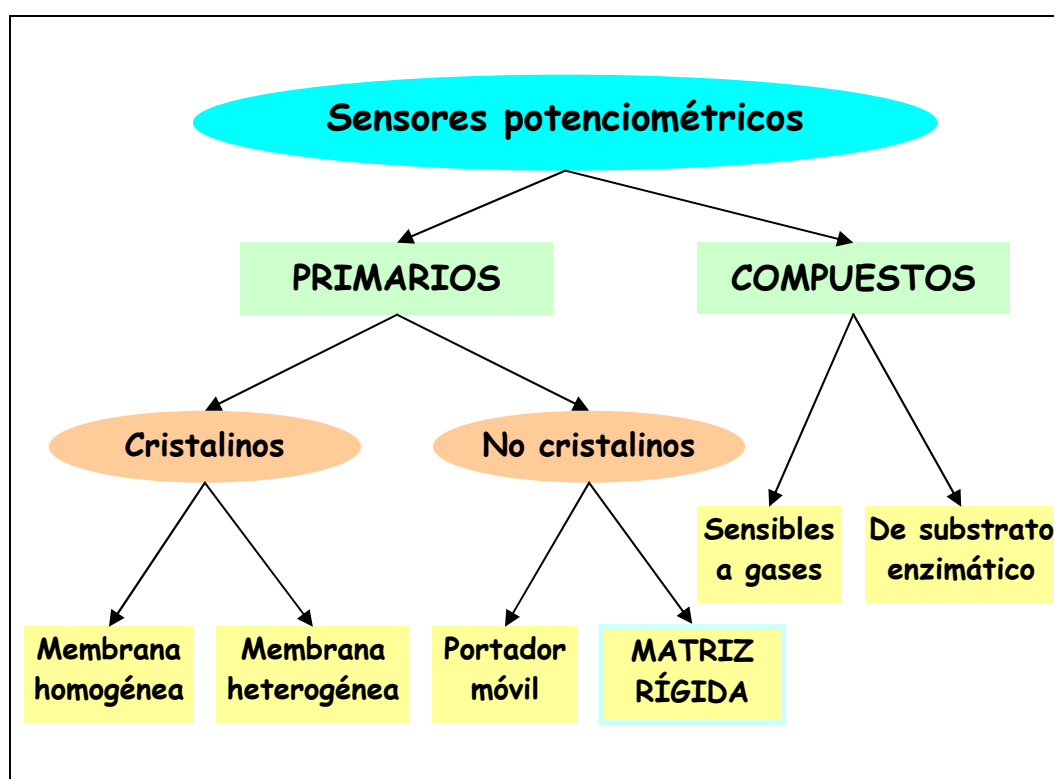
Entre los requisitos ideales que deberían cumplir los sensores potenciométricos se encuentran el ser de fácil manipulación, robustos, duraderos y no contaminantes, dar resultados reproducibles y significativos y tener tiempos de respuesta cortos [3].

Los sensores potenciométricos pueden definirse como electrodos con una membrana cuyo potencial indica la actividad del analito [2]. Pueden considerarse como medias celdas electroquímicas que están formadas por un adecuado sistema electrodo de referencia/disolución de referencia, separado de la muestra por una membrana [5]. Aunque frecuentemente los sensores potenciométricos contienen un electrodo de referencia interno y una disolución interna de referencia, a veces sólo es necesario un contacto metálico, como ocurre con algunos sensores de estado sólido. De hecho en los últimos años la mayoría de las investigaciones se han desarrollado sobre estos últimos debido, entre otras causas, a la mayor robustez del sensor y a la facilidad para miniaturizarlos [1, 2, 6].

La naturaleza de la membrana determina el ión al cual el sensor es sensible [5]. Por eso los últimos avances en la investigación en el campo de los sensores potenciométricos se han centrado en la búsqueda de materiales de los que explotar su selectividad en diferentes formatos y matrices, para utilizarlos como membranas potenciométricas [1]. El corazón del sistema es la membrana con una respuesta originaria del intercambio de uno de los iones entre la fase sólida y la disolución externa. Este intercambio crea una variación en la carga eléctrica de la membrana y una diferencia de potencial resultante en la interfase entre la membrana y la disolución externa. Esta diferencia de potencial de la interfase depende directamente de la actividad en la disolución del ión al que es sensible, y si el resto de las diferencias de potencial del circuito eléctrico se mantienen constantes, depende directamente del potencial medido [4]. La medida de este potencial se lleva a cabo completando la celda electroquímica

por medio de un electrodo de referencia adecuado y conectando los electrodos a un voltímetro [3, 5]. En principio, cualquier reacción química que involucre la transferencia iónica entre la membrana y la disolución puede servir como base para la construcción de un sensor potenciométrico, siempre y cuando la conductividad eléctrica de la membrana y la proporción de la transferencia del ión en la interfase sea suficientemente alta [4].

Los sensores potenciométricos suelen clasificarse dependiendo de la membrana donde se encuentra el material selectivo. En la Figura 1 se muestra un esquema con esta clasificación. En primer lugar se distinguen dos grupos bien diferenciados los sensores primarios y los sensores compuestos. Los sensores potenciométricos compuestos utilizan dos membranas, una selectiva a iones y otra que puede ser permeable a gases pero capaz de retener líquidos, o selectiva a moléculas de naturaleza enzimática. La elección de esta segunda membrana depende de si el sensor es sensible a gases o sensible a un sustrato enzimático (biosensor) [1].



**Figura 1.** Clasificación de los sensores potenciométricos según el tipo de membrana.



Los sensores potenciométricos primarios se dividen dependiendo de la naturaleza de la membrana en cristalinos o no cristalinos. Los sensores cristalinos contienen unos sitios fijos cargados de un signo, e iones móviles de carga puesta. Esta estructura se consigue mediante el empleo de ciertas sales inorgánicas. Si solamente utilizan un único compuesto se denominan membranas homogéneas, en caso contrario se denominan membranas heterogéneas. Los sensores potenciométricos no cristalinos presentan una membrana selectiva formada a partir de una matriz soporte que aloja sitios activos capaces de coordinar con el analito de la muestra en la interfase membrana/disolución. Pueden utilizarse múltiples soportes que se clasifican dando lugar a sensores potenciométricos de portador móvil, donde se incluyen los de membrana polimérica y sensores potenciométricos de matriz rígida, tales como el electrodo de vidrio. Entre estos últimos también se incluyen los sensores de pasta de carbón, objeto de estudio en la presente memoria [1].

### I. 2. SENSORES POTENCIOMÉTRICOS DE METALES.

#### I. 2. 1. Interés de algunos metales como contaminantes.

Entre los elementos metálicos considerados como contaminantes se encuentran algunos cuyos efectos tóxicos son conocidos desde la antigüedad (mercurio, plomo, arsénico o antimonio) y otros cuyos efectos se han descubierto más recientemente (cadmio, bismuto, cinc, cobre, talio o aluminio). Los metales que presentan una mayor toxicidad y son, por tanto, contaminantes de interés prioritario, pertenecen al grupo de los metales pesados, como el cadmio, plomo y mercurio. Además otros elementos como por ejemplo el cobre y el cinc, aunque no poseen el carácter altamente tóxico de los anteriores, se vierten en grandes cantidades al medio ambiente y por tanto son de usual investigación en el estudio de procesos de contaminación.

El **cobre** es uno de los elementos que se encuentran ampliamente distribuidos en los medios naturales de países industrializados [8]. Es uno de los metales conocidos desde la antigüedad usado como componente de la aleación de bronce. Gracias a su facilidad de extracción, buenas propiedades y a que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, sigue siendo en la actualidad uno de los metales más empleados. Entre sus principales usos podemos destacar su empleo en la industria papelera, en la fabricación de aleaciones, conductores térmicos y eléctricos, pinturas y recubrimientos resistentes a la intemperie, en diversos procesos metalúrgicos, en la industria fertilizante e incluso como pesticida [9].

El impacto ambiental del cobre se deriva de la gran utilización de este metal para fines industriales, agrícolas e incluso domésticos y por lo tanto, del volumen de vertidos, más que de su toxicidad inherente [10].

El cobre esta presente en todos los organismos ya sean terrestres o marinos, como en invertebrados y en las algas. Es un elemento esencial en multitud de procesos biológicos, como en la formación de la sangre, y en el funcionamiento de importantes enzimas actuando como cofactor catalítico. A pesar de la gran tolerancia de este metal por los seres humanos, una exposición a altas concentraciones o durante largos periodos de tiempo puede causar

irritación de ojos, nariz y boca, que desembocan en dolores de cabeza, dolores estomacales, mareos, vómitos y diarreas. Estos efectos tóxicos del cobre en los humanos se conocen desde hace siglos. Por ejemplo, se conoce como enfermedad de Wilson a la retención de altas concentraciones de este metal en órganos vitales, principalmente en el hígado [9-11].

El **plomo** es un metal conocido desde las civilizaciones más antiguas, donde se utilizó para la construcción de ornamentos variados, estatuas, anzuelos e incluso como pintura de ojos. En la corteza terrestre se encuentra como sulfuro, siendo la galena su mena más usual. Entre sus principales propiedades destacan su resistencia a la corrosión, su capacidad de absorción del sonido e incluso de radiación ionizante, su bajo punto de fusión y sus propiedades de antifricción. Estas características son las que han hecho que hoy en día, el plomo sea quizá el metal pesado más utilizado en la industria en forma elemental, formando compuestos o como componente de aleaciones [12, 13].

El principal uso del plomo se encuentra en la industria automovilística para la fabricación de baterías. También ha encontrado importantes aplicaciones como protector de radiación (en plantas nucleares o alrededor de equipos de rayos X), en la construcción, en la industria química para el revestimiento de tanques y fabricación de tuberías, para revestir cables de electricidad, como munición y junto con otros metales como aleación de soldadura. Además, aunque ya en desuso, se ha utilizado en la fabricación de pinturas y como aditivos de gasolinas, siendo este último empleo quizá la principal fuente de contaminación por plomo [12, 13].

A pesar del gran uso de este metal en las diferentes aplicaciones, el plomo es un elemento tóxico. La acción tóxica es debida a su afinidad por biomoléculas que contienen grupos tiol, fosfato o aminoácidos, provocando alteraciones de las vías metabólicas. De hecho, el plomo se califica como una sustancia cancerígena. Además, compite con el calcio en los procesos de movilización, llegando incluso a sustituir el calcio de los huesos para formar depósitos de plomo que se liberarán a largo plazo. Así, el plomo se acumula en el organismo, va actuando lentamente y puede llegar a provocar diversos síntomas, como daños en el sistema nervioso y en los riñones, y en niños, daños cerebrales semipermanentes y retrasos mentales [12-14]. La gran utilización del plomo en la industria ha generado un aumento

gradual de los niveles de plomo en aire, agua y suelos, de tal forma que en la actualidad no se puede considerar la existencia de zonas totalmente libres de contaminación.

El **mercurio** es un metal pesado que causa efectos muy perjudiciales para la salud humana tanto por vía ingestión, inhalación o absorción subcutánea. Sin embargo, se ha utilizado como laxante, en tratamientos para la sífilis e incluso alguno de los compuestos de mercurio se sigue utilizando como antiséptico local. Aunque en la actualidad la extracción y uso de mercurio ha disminuido, precisamente debido al carácter tóxico, aun sigue siendo componente primordial en pilas de mercurio, en la fabricación de algunos instrumentos científicos y de medida, como cátodo en la obtención electrolítica de cloro e hidróxido sódico a partir del cloruro sódico, y en algunos empastes dentales y fungicidas.

El alto grado tóxico de este elemento se debe a su potente acción como bloqueante enzimático y su alta afinidad por los grupos  $-SH$  presentes en los sistemas celulares. Las intoxicaciones se manifiestan a través de diversos síntomas, estando los envenenamientos crónicos asociados a daños importantes en el sistema nervioso central. Los países industrializados han prohibido el vertido de mercurio en aguas. No obstante, la contaminación de mercurio continúa siendo un problema medioambiental de vital importancia, por lo que debe controlarse su contenido y especiación en ecosistemas acuáticos y terrestres. En estos casos debe conocerse el contenido de materia orgánica presente en el medio, ya que este factor afecta a la disponibilidad, movilidad e incluso toxicidad del metal. Así, si el mercurio se encuentra formando complejos con la materia orgánica se inhibe su metilación y por tanto disminuye la toxicidad del mismo [15-19].

Para un determinado metal, su toxicidad varía dependiendo de la especie química en que se encuentra en la naturaleza. Así, la especie más contaminante suele asociarse al ión libre o acuocomplejo. La importancia de controlar los niveles de estos contaminantes en aguas naturales, aguas potables, sedimentos y en residuos industriales ha generado un gran interés en el desarrollo de nuevos sensores potenciométricos para su determinación. El empleo de estos sensores constituye un modo de análisis rápido, sencillo y barato, que solamente responde a una determinada especie química, normalmente a la concentración del ión libre.

En la presente memoria se incluyen sensores potenciométricos para la determinación de tres metales de especial relevancia por su toxicidad, o por su importante presencia en el medioambiente como son el cobre, el plomo y el mercurio.

### **I. 2. 2. Sensores potenciométricos de cobre.**

Los iones cobre son tóxicos, mientras que el cobre unido a materia orgánica natural es menos perjudicial. De esta forma, los ensayos realizados sobre el nivel de metal total en un medio son inadecuados desde la perspectiva medioambiental siendo necesarias medidas de especiación para identificar aquellas especies metálicas que tienen efectos dañinos sobre los seres vivos [6]. Los sensores potenciométricos de cobre tienen la capacidad de ser sensibles al ión metálico libre, la forma no complejada, lo que permite determinar su grado de toxicidad.

Para la determinación de cobre se han desarrollado como sensores potenciométricos, electrodos de membrana sólida y de portador móvil (membrana líquida). La mayor parte de los sensores potenciométricos desarrollados en los últimos años son de membrana líquida. Los receptores de la membrana polimérica empleados pueden ser complejos de cobre [20-26] o ligandos de distintos tipos [9, 10, 27-37].

Entre los complejos de cobre utilizados se encuentran los que utilizan como ligandos derivados de bases de Schiff [20-22]. L.P. Singh y col. [20] desarrollan un sensor potenciométrico que puede utilizarse en disolución acuosa y en medio hidroalcohólico con porcentajes de metanol inferiores al 20 % (v/v), pero cuya respuesta potenciométrica se ve afectada si en la disolución está presente el mercurio en concentración superior a  $5.0 \times 10^{-5}$  M. K.C. Gupta y col. [21, 22] desarrollan sensores cuyos receptores son las bases de Schiff que forman los complejos de salicilanilato de cobre. Estos sensores presentan límites de detección del orden de 0.1-0.2  $\mu$ M. También se han utilizado los complejos que forma el cobre con el ethambutol [23] y con la acetilacetona y el salicildehído [24]. En estos casos los sensores muestran límites de detección más altos (2-7  $\mu$ M). Además, el sensor cuyo receptor es el

complejo de ethambutol puede utilizarse para realizar determinaciones de este metal en disoluciones que contienen hasta un 40 % de acetona, metanol o etanol.

Además de complejos de cobre, se han utilizado distintos tipos de ligandos como receptores de sensores potenciométricos de membrana polimérica. Entre ellos se encuentran los derivados de bases de Schiff de distinta naturaleza [10, 27-29]. En algunos casos, utilizando estas sustancias como receptores de los sensores se llegan a alcanzar límites de detección de 0.03  $\mu\text{M}$  [27], e incluso cabe la posibilidad de trabajar sin pérdida de respuesta potenciométrica en medios hidroalcohólicos [10]. Ligandos que poseen en su estructura enlaces disulfuro [30-32] y éteres corona con azufres [33] también han demostrado ser receptores adecuados para el desarrollo de estos sensores, obteniendo buenos límites de detección y adecuadas selectividades. Además, macrociclos de polietéres, como los basados en derivados del tetratiociclotetradecano [34], de calixareno [35] y del tetraazaciclotetradecano [9], macrociclos de péptidos [36], y derivados de polipirazol [37] se han utilizado para desarrollar electrodos que presentan buenas respuestas potenciométricas hacia los iones cobre (II).

Como receptores de electrodos de membrana sólida para la determinación de cobre se han utilizado sulfuros o seleniuros de cobre [38, 39] y óxidos de wolframio [40, 41]. Estos últimos electrodos se han utilizado en determinaciones potenciométricas en continuo y como detectores de sistemas cromatográficos. También se han desarrollado sensores potenciométricos de cobre de membrana sólida basados en complejos de este mismo metal [42, 43], y en derivados pirimidínicos con átomos de azufre en su estructura [44]. Además, mediante el proceso de fabricación sol-gel se ha desarrollado un sensor potenciométrico de cobre modificado con tiosemicarbazona, que muestra óptimos parámetros analíticos como es un límite de detección de 6  $\mu\text{M}$  [11].

Solamente en dos de estos trabajos [43, 44] se construyen sensores potenciométricos de membrana sólida utilizando pasta de carbón. En uno de ellos, el sensor es modificado con los derivados de la pirimidina, presentando una adecuada selectividad (aunque no se evalúa la interferencia del mercurio) y un límite de detección de 0.70  $\mu\text{M}$ , inferior al de los otros sensores de membrana sólida [44]. El otro de los sensores potenciométricos de pasta de

carbón ha sido desarrollado por nuestro grupo de investigación. Los modificadores de la pasta de carbón son complejos de cobre con ligandos base de Schiff derivados de la tiosemicarbazona y tiohidrazona. Estos sensores presentan un límite de detección en torno a 2  $\mu\text{M}$ , y tiempos de respuesta muy cortos entre 2-18 s [43].

En el desarrollo de sensores potenciométricos de cobre ya sean de membrana sólida o polimérica, se han empleado **ligandos** que contienen átomos de azufre en su estructura [34], pero estos sensores suelen presentar grandes interferencias cuando están presentes el mercurio o la plata. Para mejorar la selectividad, en algunos sensores se han empleado ligandos que contienen dos átomos donadores distintos como nitrógeno y azufre [27, 31], o nitrógeno y oxígeno [22], o incluso las tres especies nitrógeno, oxígeno y azufre [11, 30, 33]. De este modo se obtienen óptimas respuestas para el cobre por la gran interacción de este metal con estos sustituyentes, pero evitando interferencias de otras especies metálicas, ya que se trabaja con receptores que contienen, al menos, dos átomos donadores que presentan distintas propiedades químicas.

### **I. 2. 3. Sensores potenciométricos de plomo.**

En la actualidad se comercializan sensores potenciométricos de plomo (II) cuya composición de la membrana es una mezcla de sulfuros de plata y de plomo. Estos sensores presentan un límite de detección de 1  $\mu\text{M}$  y grandes interferencias en su respuesta potenciométrica cuando en la disolución están presentes los iones cobre (II), cadmio (II), mercurio (II) y hierro (III). Por estos motivos se ha incrementado el interés en el desarrollo de nuevos sensores, sencillos y baratos, para la detección de este metal.

La mayoría de los sensores potenciométricos de plomo (II) investigados en los últimos años son de portador móvil [14, 45-64]. Como receptores de la membrana polimérica se han utilizado compuestos químicos de distintas características. Los sensores modificados con derivados de calixarenos [45-48] presentan tiempos de respuesta cortos, y límites de detección

que van desde 0.8-10  $\mu\text{M}$ . El principal problema es que algunos [45, 46] muestran bajas selectividades al mercurio (II), sodio (I), potasio (I), y plata (I) entre otros cationes. Los éteres corona y sus derivados pertenecen a otra familia de compuestos ampliamente utilizada como receptores de sensores de plomo [49-53]. Por lo general, presentan comportamientos parecidos a los sensores modificados con calixarenos con rápidas respuestas potenciométricas, en torno a 10 s [49, 50], límites de detección muy bajos (hasta 0.07  $\mu\text{M}$  [49]) y bajas interferencias, salvo algunos casos donde la respuesta se ve afectada principalmente por la presencia de mercurio [51, 52]. Aunque en menor medida que para los sensores de cobre, también se han empleado derivados de bases de Schiff como receptores [54, 55] obteniendo sensores de plomo que presentan bajos tiempo de respuesta, 10 s, y buenas selectividades. Además, se han desarrollado recientemente sensores potenciométricos de plomo modificados con piroxicam [56], ácido decanoico [14], derivados de fosfato de bencilo [57], derivados de ditiocarbamato [58] y derivados de pirrolidinas [59] entre otros compuestos, pero estos sensores muestran baja selectividad, ya que su respuesta se ve muy afectada si en la disolución se encuentran iones mercurio (II) [58], plata (I) [56, 58, 59] y/o hierro (III) [59].

Aunque en menor medida, también se han desarrollado sensores potenciométricos de plomo (II) de matriz rígida, como el de Ardakani y col. [65]. En este caso, preparan un nuevo sensor mediante el proceso sol-gel, que presenta un límite de detección similar al del sensor comercial, un amplio intervalo de pH (4.0-8.2) donde el potencial medido es independiente de las variaciones de este parámetro, rápida respuesta (10 s), y buena selectividad, aunque no realizan estudios de interferencias con el ión mercurio (II). Además, hasta el momento, no se ha descrito en la bibliografía ningún sensor potenciométrico de plomo (II) de matriz rígida de pasta de carbón.

Repasando los sensores de plomo publicados recientemente se observa como la mayoría de los **receptores** de estos sensores contienen átomos de oxígeno en su estructura [14, 46-48, 51, 53, 57, 60]. En algunos casos además de estos átomos donadores, los receptores poseen también átomos de azufre [52, 61], de nitrógeno [45, 49, 50, 54, 55, 62, 63] o ambos [56, 59]. De este modo se disminuyen las posibles interferencias de los iones alcalinos. También se han utilizado como receptores compuestos que no contienen oxígeno, pero si nitrógeno o azufre [58, 64, 65].



#### **I. 2. 4. Sensores potenciométricos de mercurio.**

Los análisis de rutina de mercurio se realizan mediante la determinación de su forma elemental por espectroscopía atómica de vapor frío, análisis que requieren un tratamiento previo de la muestra. Sin embargo, mediante el empleo de sensores potenciométricos pueden determinarse trazas de este metal en muestras de matriz complicada sin necesidad de ese tratamiento previo, y por tanto en menos tiempo [66]. Aunque el número de sensores de mercurio es inferior comparado por ejemplo con los de cobre, en los últimos años se han desarrollado sensores con matriz rígida [67] y con portador móvil [66, 68-80].

Como en el caso del cobre y el plomo el número de sensores de membrana líquida es mayor que los que poseen una matriz rígida. Entre los ligandos utilizados se encuentran, entre otros, derivados de calixarenos [68, 69], éteres corona [70, 71] y bases de Schiff [72, 73].

Los sensores potenciométricos con derivados de calixarenos presentan rápida respuesta (20 s) aunque en ella interfieren la presencia de otros cationes metálicos como la plata y el hierro [68]. Se han utilizado derivados de calixarenos que contienen átomos de azufre, eliminando en este caso la interferencia del hierro, pero no la de la plata [69]. Además, este sensor presenta respuesta potenciométrica tanto al mercurio (II) libre, como al hidróxido de mercurio (II), en función del pH de la disolución. En cambio los sensores modificados con bases de Schiff [72, 73] y con éteres corona que poseen átomos de azufre en su estructura [70, 71] muestran gran selectividad hacia los iones mercurio, tiempos de respuesta en torno a los 10 s y buenos límites de detección que se encuentran en el intervalo de concentraciones de 0.2-6.0  $\mu\text{M}$ .

Como receptores para sensores de mercurio de portador móvil se han empleado también compuestos derivados de la piridina [74, 75]. Aunque los dos compuestos contienen átomos de azufre en su estructura, con uno de los sensores [74] se obtienen bajos niveles de interferencias, rápidas respuestas potenciométricas, y la posibilidad de trabajar en medios hidroalcohólicos (hasta un 30 % de metanol o etanol) sin pérdida de respuesta. En cambio, la

respuesta potenciométrica del otro sensor [75] presenta gran interferencia si en la disolución de medida se encuentran presentes los iones plata (I) y sodio (I). Mahajan y col [76] desarrollan un sensor potenciométrico de mercurio empleando un derivado de tiosemicarbazona en cuya respuesta interfieren también estos dos metales. Destacan los sensores potenciométricos de mercurio modificados con derivados de ácido acrílico [77], con derivados de fenilcarbamato [78] y con el ligando 1, 3 difenil tiourea [79] por los límites de detección tan bajos que presentan, 0.05, 0.7 y 1  $\mu\text{M}$  respectivamente.

Entre los sensores potenciométricos de matriz rígida para la determinación de mercurio (II) se encuentra el desarrollado por Abbas y col. [67] basado en pasta de carbón. En este caso el sensor potenciométrico está modificado con un complejo de mercurio. Este sensor presenta un tiempo de respuesta de 30-50 s, dependiendo de la concentración de mercurio de la disolución, un límite de detección de 4  $\mu\text{M}$ , selectividad adecuada, y una gran influencia en el valor del potencial con el pH del medio.

La mayoría de los compuestos empleados como **receptores** de los sensores potenciométricos de mercurio contienen átomos de azufre, junto con átomos de nitrógeno [79, 80], o de oxígeno [71] o incluso ambos [69, 70, 72, 75-77]. La presencia de átomos de azufre se debe a la gran afinidad que presentan los grupos  $-\text{SH}$  y  $=\text{S}$  por el mercurio (II) comparado con otros cationes metálicos. De este modo, aumenta la selectividad en la respuesta potenciométrica de estos sensores hacia los iones mercurio (II) sobre el resto de metales, como los alcalinos y los alcalino-térreos [72, 80].

### **I. 3. SENSORES MODIFICADOS DE PASTA DE CARBÓN.**

Aunque la moderna instrumentación analítica es una herramienta útil, la detección selectiva y/o la separación del analito de la matriz de muestra son importantes para evitar errores debidos al efecto de la matriz. Para solucionar este problema analítico surgieron los electrodos modificados químicamente (en inglés, ‘chemically modified electrode’ CME) que muestran un alto grado de selectividad y representan una nueva categoría entre los sensores electroquímicos. Desde que surgieron a mediados de los 1970s, han ganado un interés considerable y se han realizado grandes avances en este campo, siendo la investigación de las características de la superficie de los CMEs y sus aplicaciones una de las áreas de investigación más activas en la electroquímica y química analítica actual [81].

Los electrodos modificados químicamente pueden definirse como poderosos sensores (predominantemente voltamperométricos, amperométricos y potenciométricos), obtenidos por la modificación deliberada de la superficie o de la matriz del material del electrodo con un reactivo seleccionado (monomérico o polimérico) que gobierna sus propiedades electroquímicas. La manipulación de la composición molecular del electrodo pretende mejorar su sensibilidad, selectividad y estabilidad, permitiendo obtener una respuesta a medida de las necesidades analíticas [82]. Por tanto, lo que se busca es un control deliberado de la estructura molecular de la superficie, con la intención de hacer el electrodo a medida para encontrar aplicaciones específicas, y conseguir que la reacción electroquímica deseada sea más rápida y simple.

Al inmovilizar un producto químico, sus propiedades físico-químicas y químicas son transferidas a la superficie del electrodo, por lo que primero debe seleccionarse cual va a ser el reactivo químico inmovilizado, o más bien, cuales son sus propiedades deseadas (agentes de transferencia electrónica, centros quirales, catálisis o mediadores de transferencia electrónica para la reacción con un sustrato, funcionalidad para atrapar moléculas o iones traza de disoluciones para su análisis tras la preconcentración, etc.). Es decir, el electrodo puede ser diseñado a medida para exhibir estas propiedades [81, 83].

Entre los sensores modificados químicamente se encuentran los llamados sensores de pasta de carbón químicamente modificados (en inglés, 'chemically modified carbon paste electrodes' CMCPEs). Desde su aparición, a mediados de los años 70, la pasta de carbón es uno de los materiales más utilizados en la fabricación de sensores dentro de la química electroanalítica [84].

La pasta de carbón se prepara por simple mezcla de las cantidades apropiadas de modificador o especie electroactiva, grafito o carbón en polvo y nujol, aceite de silicona, parafina líquida o grasa (como líquido de relleno para formar la pasta) usando un mortero. La adición de nujol o parafina disminuye la alta corriente residual del polvo de grafito, pero también el porcentaje de la transferencia electrónica. De hecho este tipo de sensores presentan menores resistencias óhmicas que los preparados con membranas poliméricas [67, 85]. Después de la mezcla, la pasta se empaqueta dentro de una carcasa para el electrodo (como una jeringuilla de plástico, teflón o un tubo de plástico) y es equipada con un contacto eléctrico. Las especies electroactivas deben ser insolubles en la disolución de análisis.

Los CMCPEs presentan una respuesta electroquímica muy estable, que puede restablecerse, simplemente, cambiando la capa exterior de la pasta y puliendo de nuevo la superficie. Esto supone una gran ventaja porque debido a la conveniente renovación de su superficie podemos conseguir una respuesta electroquímica reproducible [83]. En el campo de la química analítica estos sensores se han utilizado en aplicaciones de electrocatálisis, preconcentración selectiva y permeabilidad selectiva y determinaciones potenciométricas [81, 85-89]. De todos modos, su principal uso se basa en la preconcentración del analito de la disolución de la muestra por deposición química en la superficie del electrodo y su posterior análisis por voltametría en un electrolito soporte [89]. Como modificadores químicos suelen utilizarse reactivos complejantes [90-96] y cambiadores iónicos [97, 98]. Así, se consiguen mejores sensibilidades y selectividades en la voltametría de CMCPEs, aunque están fuertemente afectadas por las condiciones experimentales [89].

Los CMCPEs también pueden utilizarse **como sensores potenciométricos**, pero por el momento, hay relativamente pocas aplicaciones. Sus principales características, cuando se emplean en este campo, son una rápida respuesta, límites de detección relativamente bajos, no

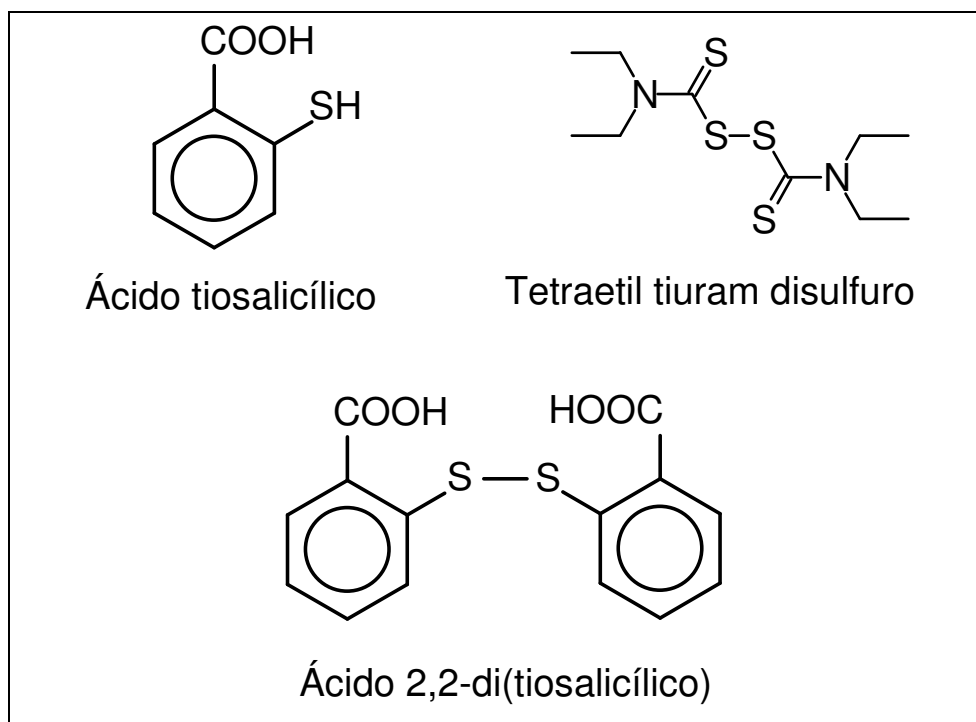
tienen efectos de memoria, tiempo de activación relativamente cortos, fácil preparación, necesidad de pequeños volúmenes de muestra y mejor estabilidad y protección contra los compuestos orgánicos interferentes que los electrodos de ión selectivo convencionales. La respuesta potenciométrica de los CMCPEs es proporcional a la concentración del analito en la muestra, y no es necesario el uso de la disolución de referencia interna [81].

Mesaric y col. fueron probablemente los primeros en utilizar como sensor potenciométrico un cilindro plástico o jeringuilla relleno de pasta de carbón, cuya superficie puede renovarse con facilidad [84]. Tres décadas después, sigue utilizandose este mismo procedimiento en la preparación de sensores potenciométricos. Así, en los últimos años puede destacarse el desarrollo de electrodos modificados de pasta de carbón para la determinación potenciométrica de metales como cobre [43, 44, 99], mercurio [67], litio [100], níquel [101], plata [102, 103] y talio [104], de aniones como yoduro [105, 106], bromuro [107] y percloratos y tetrafluoro boratos [85] y biosensores potenciométricos para cisteína [108], ácido ascórbico [109, 110] y antihistamínicos [111].

#### I. 4. ANTECEDENTES DE LAS REACCIONES ENTRE LOS COMPUESTOS SELECCIONADOS COMO RECEPTORES DE LOS SENSORES Y LOS METALES EN DISOLUCIÓN.

Los ligandos empleados como receptores de sensores potenciométricos de metales deben presentar una estructura apropiada para la formación de complejos metálicos. Como se ha comentado en anteriores epígrafes, en el desarrollo de electrodos selectivos de iones de metales pesados y de metales de transición se han empleado distintas clases de receptores, siendo los más adecuados aquellas macromoléculas que contienen átomos donadores de oxígeno y/o azufre y/o nitrógeno en su estructura [11, 26, 27, 31, 33, 34, 36, 44, 45, 49, 50, 52, 54-56, 58, 59, 61, 64, 65, 69-77, 79, 80].

En esta memoria para el desarrollo de los sensores potenciométricos se han elegido como receptores el ácido tiosalicílico (TS), el ácido ditiosalicílico (DTS) y el tetraetil tiuram disulfuro (TETDS). Las estructuras de estos ligandos se muestran en la Figura 2.



**Figura 2.** Estructura de los ligandos utilizados como receptores de los sensores potenciométricos desarrollados.

Los compuestos seleccionados como receptores de los sensores potenciométricos contienen átomos de azufre, que presentan gran afinidad a los metales pesados, además de átomos donadores de nitrógeno ó oxígeno. Los ligandos TS y DTS forman en disolución complejos con cationes como el cobre (II), el mercurio (II) y el plomo (II). El ligando TETDS también forma complejos con los cationes metálicos ya que dispone de una estructura apropiada con cuatro átomos donadores de azufre [32]. De todos modos, en algunos casos, se produce la ruptura del enlace S-S de la molécula de TETDS, dando lugar a dos moléculas de dietil ditiocarbamato que son las que enlazarían con los iones metálicos para formar los correspondientes complejos [112-114].

#### **I. 4. 1. Interacciones en disolución del ácido tiosalicílico con los metales.**

Para el ligando TS se han encontrado en la bibliografía gran cantidad de trabajos donde se estudian las características de los complejos formados entre este ligando y distintos cationes metálicos.

En el caso del mercurio, la síntesis del complejo puede llevarse a cabo simplemente adicionando el ligando disuelto en etanol sobre la disolución acuosa del metal [115]. El espectro de infrarrojo del compuesto obtenido muestra la desaparición de la bandas correspondientes al enlace S-H, a  $2500\text{ cm}^{-1}$ , que si están presentes en los espectros del ligando. Este dato confirma que el grupo -SH del ligando se encuentra formando parte de la coordinación del complejo [115].

Kumar y col. [116] estudian la formación del complejo entre el TS y el plomo (II) mediante polarografía, confirmando que en tampón acetato el complejo que se forma es el de estequiometría 1:1, metal:ligando.

Posteriormente, Al-Niami y col. [117] estudian los complejos formados con los iones plomo (II), mercurio (II), zinc (II) y cadmio (II) mediante potenciometría ácido-base y espectroscopia infrarroja. Para los iones plomo (II) se sintetiza el complejo 1:1 y para el

mercurio (II) se sintetizan los complejos 1:1 y 1:2 (metal:ligando), mezclando las cantidades estequiométricas del ligando disuelto en medio alcohólico con el metal disuelto en medio acuoso. Los complejos formados entre el ligando TS y los iones mercurio (II) en disolución son  $(\text{Hg-SRCOOH})^+$  y  $(\text{HOOCRS-Hg-SRCOOH})$ , complejos que dependiendo del valor del pH pueden encontrarse desprotonados. Por último mediante espectroscopia infrarroja obtienen información sobre el enlace entre los metales y el ligando. La desaparición de las bandas S-H confirman el enlace a través del átomo de azufre de la molécula del ligando. En el caso del plomo, la desaparición de la banda del S-H y la modificación de la banda del grupo carboxilato indican que ambos grupos intervienen en la formación del complejo. Resultados similares a los del complejo de plomo se obtienen para los de cadmio y zinc. Estos autores incluyen un orden en la fortaleza de los enlaces entre las especies metálicas y el azufre ( $\text{Hg} > \text{Zn} > \text{Cd} > \text{Pb}$ ) y entre estos mismos metales y el oxígeno del grupo carboxílico ( $\text{Zn} > \text{Cd} > \text{Pb}$ ).

Anjaneyulu y col. [118] calculan los valores de las constantes de formación de los complejos de estequiometría 1:1 y 1:2 (metal:ligando) formados entre los iones mercurio (II) y distintos ligandos derivados del ácido salicílico en disolución hidroalcohólica. El cálculo se realiza a partir de los datos experimentales obtenidos de valoraciones ácido-base en disoluciones que contienen un 70 % (v/v) de etanol. Los mayores valores de las constantes de formación se obtienen cuando el ligando utilizado para formar el complejo es el ácido tiosalícílico ( $\log \beta_1 = 15.98$ , y  $\log \beta_2 = 25.74$ ), único derivado del ácido salicílico de los ensayados que contiene un átomo de azufre en su estructura.

Los estudios de interacción entre los iones cobre (II) y el ácido tiosalícílico confirman la formación de los correspondientes complejos [119-121]. Nair y col [119] estudian las características magnéticas del complejo y alguna de sus características espectrales, llegando a la conclusión de que la coordinación se lleva a cabo a través del átomo de azufre del ligando. Más tarde Subrahmanyam [120] sintetiza los complejos formados entre el cobre y el TS de estequiometría 1:1 y 1:2 (metal:ligando) y los caracteriza por espectroscopia infrarroja. Como conclusiones del estudio obtiene que, para ambos complejos, el enlace entre el metal y el ligando se produce a través del átomo de azufre, mientras que no hay constancia de coordinación entre el cobre y el ligando a través del oxígeno del grupo carboxilato. Abu-Bakr



[121] realiza un estudio por espectrofotometría de absorción molecular en medio hidroalcohólico para determinar las características del complejo formado entre el cobre y el TS. Realiza estudios a distintos valores de pH y con distintas cantidades de ligando y metal, formándose en todos los casos el complejo de estequiometría 1:1. Por último, calcula la constante de formación de los complejos que forma el cobre con el salicílico y el TS. Los valores obtenidos son muy similares  $\log \beta = 11.46$  y  $11.02$  para los complejos formados con el ácido salicílico y con el TS respectivamente, en etanol-agua. Justifica esta pequeña diferencia en el valor de las constantes teniendo en cuenta el comportamiento ácido-base de los dos ligandos. Las constantes de disociación ácido-base para el salicílico son  $pK_a = 3.42$  y  $13.86$ , y para el TS  $pK_a = 4.65$  y  $9.40$ . Según Abu-Bakr, puede obtenerse una relación entre los valores de las constantes de estabilidad de estos complejos y la segunda constante de disociación de los ligandos. Así, la estabilidad aumenta con el aumento del valor de la segunda constante de disociación del ligando.

#### **I. 4. 2. Interacciones en disolución del ácido ditiosalicílico con los metales.**

Comparando la información encontrada en la bibliografía sobre los complejos metálicos formados con el ligando TS y con el ligando DTS, se observa que mientras para el ligando TS estos complejos han sido ampliamente estudiados desde hace 30 años, en el caso del ligando DTS no se dispone de tanta información. La causa por la que se han realizado menos estudios de complejación con el ligando DTS es porque cuando este ligando se encuentra en disolución en determinadas condiciones puede producirse la ruptura de la molécula a través del enlace S-S. Se obtienen entonces dos moléculas de TS que son con las que el metal se enlaza para formar el correspondiente complejo.

De todos modos, aunque en menor número, también se dispone de información de los complejos formados entre este ligando y distintos cationes metálicos. Subrahmanyam [122] sintetiza los complejos formados entre el cobre y el ligando DTS a distintos valores de pH, la mayoría de ellos de estequiometría 1:1, y posteriormente los estudia por espectroscopía infrarroja. En todos los complejos observa la aparición de una banda a  $410\text{ cm}^{-1}$ , que atribuye

al enlace Cu-O. Bhowon y col. [123] sintetizan los complejos metálicos de estequiometría 1:1 entre el ligando DTS y los iones cobre (II), cobalto (II), manganeso (II), níquel (II), zinc (II) y rutenio (III). Mediante espectroscopía infrarroja estudian las características estructurales de todos los complejos sintetizados. Para todos los complejos observan como desaparece la banda de grupo carbonilo del ligando ( $1681\text{ cm}^{-1}$ ) y en cambio aparecen dos bandas una entre  $1600\text{-}1590$  y otra entre  $1361\text{-}1407\text{ cm}^{-1}$ , que asignan a la vibración simétrica y asimétrica del carboxilato. Por tanto, según ambos estudios, el oxígeno del grupo carboxílico del ligando DTS coordina a los átomos de cobre para formar el correspondiente complejo de estequiometría 1:1.

## **II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO**



## II. 1. OBJETIVOS.

El **objetivo principal** del trabajo realizado es el desarrollo de sensores potenciométricos para la determinación de metales. Estos nuevos sensores deben presentar óptimos parámetros analíticos, como rápidas respuestas y bajos límites de detección, para poder emplearlos en distintas aplicaciones. Así, estos sensores deben mostrar respuestas adecuadamente selectivas para realizar determinaciones directas del metal en muestras de distinta naturaleza, pero también pueden presentar respuestas sem-selectivas para el desarrollo de sistemas de sensores para su análisis en mezclas.

Debido a la gran importancia que han adquirido los estudios de interacción con la materia orgánica natural, como a la toxicidad y cada vez mayor presencia de metales en aguas y suelos, los nuevos sensores desarrollados deberán presentar respuestas adecuadas para poder realizar estudios de interacción entre metales y las sustancias húmicas (principales componentes orgánicos presentes en medios naturales).

Para la preparación de los sensores, se han elegido receptores que presentan grupos tio y ditio para obtener una adecuada selectividad para los elementos estudiados: los ácidos tiosalicílico y ditiosalicílico y tetraetil tiuramdisulfuro. Para su construcción se modifica con los ligandos la superficie de electrodos de pasta de carbón en una determinada proporción. Los iones metálicos elegidos para el análisis con estos sensores son el plomo (II), cobre (II) y mercurio (II), especies de especial relevancia por su toxicidad o importante presencia en medios naturales.

La elección de los ligandos empleados como receptores se realizó en base a sus características estructurales. Estas características juegan un papel muy importante. El ácido tiosalicílico, el ácido ditiosalicílico y el tetraetil tiuram disulfuro poseen átomos de azufre y oxígeno o nitrógeno en su composición. Estos átomos donadores presentan una gran afinidad de hacia los metales de transición, los que les convierte en candidatos adecuados para el desarrollo de sensores de metales.

### II. 2. PLAN DE TRABAJO.

Para lograr los objetivos propuestos desarrollaremos los siguientes apartados a lo largo de esta memoria:

#### **DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS SENSORES.**

Inicialmente, se construirán electrodos de pasta de carbón cuya superficie se modificará con distintas proporciones de receptor. En estos sensores se optimizará su construcción y su medida analítica y se caracterizará su respuesta potenciométrica mediante los siguientes estudios:

- ✓ Optimización de los parámetros analíticos.
  - Estudio de la influencia de la composición de los sensores sobre la respuesta a los metales.
  - Estudio de la respuesta potenciométrica en función del pH.
  - Estudio de la respuesta potenciométrica en función de la actividad de los iones metálicos.
- ✓ Caracterización de los sensores
  - Cálculo de los tiempos de respuesta.
  - Cálculo de los límites de detección.
  - Estudio de la estabilidad y reproducibilidad de la respuesta potenciométrica.
  - Estudio de la selectividad de la respuesta frente a diversos cationes interferentes

#### **CARACTERIZACIÓN DE LAS ESPECIES QUÍMICAS FORMADAS EN LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES.**

Debido a la diferente respuesta electroquímica observada con estos sensores en la medida de los distintos metales, en este apartado se llevaron a cabo estudios encaminados a caracterizar la especie presente en la superficie del electrodo de pasta de carbón, llevando a cabo medidas con técnicas de superficie y electroquímicas. El conjunto de estudios incluyen:

- ✓ Estudio de la superficie de los sensores mediante microscopía de barrido electrónico (SEM-EDAX).
- ✓ Estudio cinético de la reacción de formación de los complejos en la superficie de los sensores, realizado mediante medidas voltamperométricas de redisolución anódica
- ✓ Cálculo de las constantes de formación de los complejos en la superficie de los sensores empleando medidas voltamperométricas de redisolución.

## APLICACIONES

Una vez caracterizados los distintos sensores potenciométricos se utilizan para la determinación de la concentración del correspondiente ión metálico mediante potenciometría directa en muestras con diferentes matrices. También se estudia la utilización de los sensores en la medida cuantitativa de los iones metálicos mediante valoraciones complexométricas y en la caracterización de macromoléculas naturales.

- ✓ Potenciometría directa para la determinación del correspondiente ión metálico.
  - Determinación de cobre en aceites lubricantes.
  - Determinación de plomo en aleaciones de soldadura.
- ✓ Valoraciones potenciométricas de metales con AEDT.
- ✓ Estudio y caracterización de la interacción metal-ácido húmico.
  - Valoraciones potenciométricas de ácidos húmicos.
  - Estimación de la constante de interacción metal-ácido húmico.

En un último apartado de aplicaciones se evalúa la utilización de estos sensores potenciométricos en análisis por inyección en flujo y en el análisis conjunto de mezclas de distintos cationes metálicos, con sistemas de más de un sensor:

- ✓ Análisis Potenciométrico por Inyección en Flujo de iones metálicos en muestras de distinta naturaleza.
- ✓ Análisis de mezclas de cobre y mercurio mediante medidas multisensor.





### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**



### III. 1. REACTIVOS E INSTRUMENTACIÓN.

#### III 1.1. Reactivos.

- Nitrato de cobre (II), nitrato de mercurio (II) y nitrato de plomo (II) de Fluka (Suiza) de grado analítico.
- El ácido 2, 2-di(tiosalicílico) (DTS), el ácido tiosalicílico (TS) y el tetraetil tiuram disulfuro (TETDS) de Sigma (EE.UU.).
- Grafito espectrográfico en polvo (1-2  $\mu\text{m}$ ) de Aldrich (EE.UU.) de grado analítico.
- Aceite de parafina de Fluka (Suiza) de grado analítico.
- Ácido húmico de Fluka (Suiza) de 600-1000 g/mol.
- Sal sódica del ácido húmico de Aldrich (EE.UU.).
- Ácidos húmicos naturales extraídos de sedimentos del río Jarama.
- PIPES (piperazine- 1, 4-bis [ácido 2-etanosulfónico] ) de Fluka (Suiza).
- Ácido acético y acetato sódico de Fluka (Suiza) de grado analítico.
- Ácido nítrico concentrado de Fluka (Suiza) para análisis de trazas.
- Ácido clorhídrico concentrado de Fluka (Suiza) para análisis de trazas.
- El resto de los nitratos de otros metales (cadmio, zinc, sódico, magnesio, aluminio...) y reactivos (sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (AEDT), hidróxido sódico, cloruro potásico, etc) son de Carlo Erba (Italia) y Scharlab (España), todos ellos de grado analítico.
- Agua ultrapura Milli-RO-Milli-Q (Millipore, EE UU).

#### III. 1.2. Preparación de las disoluciones de patrones y electrolitos.

Todas las disoluciones se prepararon en agua ultrapura obtenida mediante el sistema Milli-RO-Milli-Q. Todo el material de vidrio y polipropileno utilizado en los tratamientos realizados a las muestras y en la preparación y almacenamiento de las disoluciones fue tratado primero con ácido nítrico al 10 % y luego enjuagado con agua ultrapura Milli-RO-Milli-Q.

Las disoluciones patrones de cobre (II), plomo (II) y mercurio (II) 0,1000 M se preparan por pesada directa de la cantidad del nitrato metálico correspondiente y posterior disolución en agua ultrapura. El resto de las disoluciones patrón de estos metales de menor concentración se prepara por adecuada dilución del patrón de concentración 0,1000 M con el electrolito utilizado en la medida.

Para preparar las disoluciones tampón de pH 6.0 se pesa la cantidad adecuada de PIPES y se disuelve en agua ultrapura Milli-RO-Milli-Q adicionando la mínima cantidad de NaOH 0,1 M necesaria hasta la completa disolución del sólido. Posteriormente se ajusta el pH a 6.0 con disolución diluida de NaOH ó HNO<sub>3</sub>. Las disoluciones tampón de pH 4.2 y pH 4.8 se prepararon con las cantidades adecuadas de ácido acético glacial y acetato sódico hasta ajustar el pH al valor deseado.

### III. 1.3. Preparación de las disoluciones de ácidos húmicos.

La disolución del **ácido húmico comercial de Fluka** se prepara disolviendo una porción pesada del mismo en la mínima cantidad de NaOH  $1.0 \times 10^{-3}$  M para alcanzar un pH de 6.0, adicionando el reactivo hasta que no se observa variación en el pH de la disolución. Por último, se diluye con el electrolito utilizado en la medida.

La **sal sódica del ácido húmico de Aldrich** es soluble en agua en el intervalo de concentraciones ensayado, por lo que se prepara pesando la cantidad adecuada de la sal y posterior disolución en el electrolito utilizado.

Los **ácidos húmicos naturales** se obtuvieron de sedimentos de distintos puntos de la cuenca del río Jarama (San Martín de La Vega y Mejorada del Campo, Madrid) y se aislaron siguiendo el procedimiento descrito por Stevenson [124]. La extracción de los ácidos húmicos se realizó agitando durante 12 horas 4 g del sedimento con 20.0 ml de NaOH 0.5 M. Después la mezcla se centrifuga, se decanta el líquido sobrenadante y se filtra a través de lana de vidrio para eliminar las partículas de material en suspensión. Al adicionar sobre esta disolución HCl

concentrado hasta un pH de 1.0, se obtiene un precipitado que se separa del resto de la disolución. Sobre este sólido se repite de nuevo todo el proceso de extracción, decantación y centrifugación, pero en este caso la agitación se realiza sólo durante 1 hora. Cuando ha finalizado el segundo proceso de extracción, se mezclan las disoluciones obtenidas en ambas etapas. La precipitación del ácido húmico tiene lugar cuando se adiciona a esta disolución HCl concentrado hasta pH 1.0. El ácido húmico se separa por centrifugación y se lava varias veces con pequeñas cantidades de agua ultrapura para eliminar los posibles residuos de HCl. Por último se seca y se muele para tener el ácido húmico como un particulado de color marrón oscuro.

La preparación de las disoluciones de estos ácidos húmicos naturales se lleva a cabo siguiendo el mismo procedimiento descrito para la preparación de las disoluciones del ácido húmico comercial suministrado por Fluka.

### **III. 1.4. Instrumentación.**

- pH-metros / ionómetros Metrohm modelo 692 y modelo 781, empleados para llevar a cabo las medidas de potencial y pH.
- Electrodos de referencia de Ag/AgCl de doble unión, Orion modelo 90-02 y Metrohm modelo 6.0726.100 (el compartimento externo de los electrodos se rellena con el mismo electrolito soporte utilizado en las disoluciones de medida).
- Electrodo combinado de pH Metrohm modelo 6.0233.100.
- Electrodo de ión selectivo de estado sólido de  $\text{Cu}^{2+}$  Metrohm modelo 6.0502.140, utilizado para corroborar algunos de los resultados obtenidos con los sensores potenciométricos de cobre (II) desarrollados en este estudio.
- Termostato P-Selecta, modelo Digiterm s-613 para el control de la temperatura de las células electroquímicas de medida.
- Agitador magnético Schott modelo 1360.
- Celda electroquímica con camisa termostática Metrohm modelo EA876-20, empleada para medidas potenciométricas y amperométricas.

- Potenciostato  $\mu$ -Autolab EcoChemie controlado por ordenador mediante el software GPES (General Purpose Electrochemical System) version 4.3 utilizado para las medidas voltamperométricas.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Unicam serie Solaar M, empleado para la determinación de cobre, plomo y mercurio total en muestras. Las medidas se realizaron siguiendo las condiciones recomendadas por el fabricante.
- Agitador orbital P-Selecta, modelo Rotabit, utilizado para la extracción de los ácidos húmicos de los sedimentos de río.
- Centrifuga de Hettich, modelo Universal 16, empleada en la extracción de los ácidos húmicos de los sedimentos de río.
- Sistema de preparación de muestras de energía microondas Perkin-Elmer Anton-Paar, modelo Multiware, empleado para las digestiones de los aceites residuales.
- Bomba peristáltica Gilson modelo Minipuls 3, utilizada en las medidas en flujo.
- Válvula de inyección manual Ommifit, modelo 1106, utilizada en las medidas de flujo.
- Célula electroquímica para la medida en continuo de Metrohm modelo 6.5303.020 utilizada en las medidas en flujo.
- Registrador x-t Linseis modelo L 6512. Empleado para el registro de las curvas cinéticas de los sensores y para el registro de las medidas en flujo.
- Microscopio electrónico de barrido (SEM) Philips, modelo XL30 equipado con un analizador de rayos-X (EDAX) modelo DX4i, empleado para fotografiar y analizar la superficie de los sensores, perteneciente al Servicio Interdepartamental de Investigación de la U.A.M. (SiDI).
- Analizador Elemental LECO modelo CHNS-932, empleado para determinar el porcentaje de carbono, oxígeno, nitrógeno, azufre e hidrógeno de las muestras de ácidos húmicos comerciales y naturales, perteneciente al Servicio Interdepartamental de Investigación de la U.A.M. (SiDI).
- Equipo de purificación de aguas Milli-RO 5 plus –Milli-Q 85 plus para la obtención de agua ultrapura.

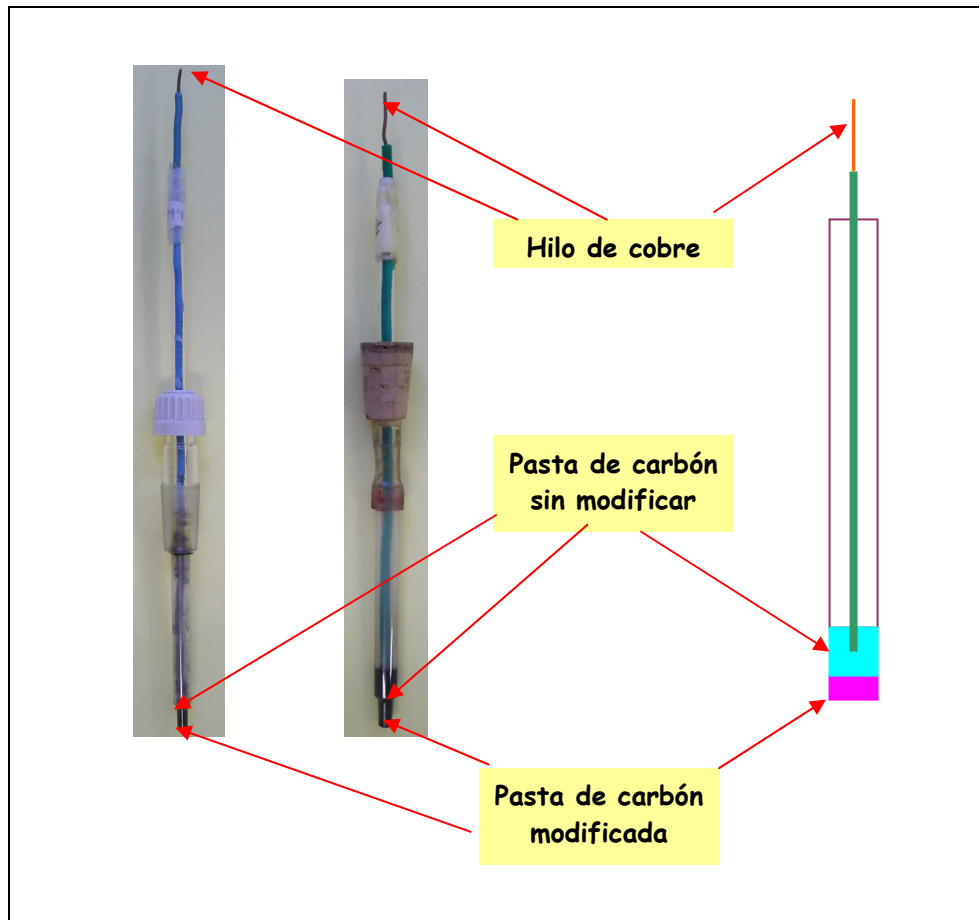
### III. 2. PREPARACIÓN DE LOS SENSORES.

Los sensores potenciométricos de pasta de carbón se preparan utilizando un contacto interno metálico, en vez de una disolución de referencia interna. El principal requisito que debe cumplirse es que la membrana separe totalmente la disolución de medida del interior del sensor para evitar así posibles errores. Por lo tanto para un buen funcionamiento del electrodo es necesario que la membrana separe completamente la parte externa y la interna de electrodo sin que aparezcan grietas o fisuras [2].

Se preparan sensores potenciométricos de pasta de carbón modificada para cada uno de los ligandos (DTS, TS y TETDS). Se construyen utilizando jeringuillas de polipropileno de 1 ml provistas de un hilo de cobre para realizar así el contacto eléctrico. En el extremo de la jeringuilla se coloca primero, en su parte interior y en contacto con el hilo de cobre, pasta de carbón sin modificar. En la parte exterior, sobre la pasta sin modificar se coloca una pequeña capa de la pasta de carbón modificada (1 mm de profundidad, y 2 mm de diámetro) que constituye la superficie del sensor. Por último, para obtener una superficie pulida y un adecuado empaquetamiento de la pasta, se presiona la superficie del sensor sobre un papel de filtro. En la Figura 3 se muestra un esquema de los sensores potenciométricos construidos.

La pasta de carbón sin modificar o pasta de carbón base, se prepara mezclando en un mortero de ágata 0.5 g de grafito espectrográfico en polvo y la cantidad necesaria de aceite de parafina, mezclándolo al menos durante 5 minutos, hasta obtener una pasta homogénea.

El procedimiento seguido para la preparación de la pasta de carbón modificada es el mismo en todos los casos. Se mezclan cuidadosamente en un mortero de ágata el grafito en polvo y la cantidad correspondiente del modificador elegido para preparar la pasta con el porcentaje adecuado. Después se va añadiendo gota a gota el emulsionante y se mezcla todo meticulosamente hasta obtener una pasta con consistencia uniforme.



**Figura 3.** Sensores potenciométricos de pasta de carbón.

Después de la utilización del sensor potenciométrico, este se lava con agua ultrapura y se seca con cuidado. Si la superficie del sensor se contamina o se observan diferencias en la respuesta potenciométrica, puede restablecerse el comportamiento esperado cambiando la capa más externa de la superficie del sensor, que contiene la pasta de carbón modificada, por nueva pasta de carbón modificada. Después se presiona la nueva superficie sobre el papel de filtro para obtener un correcto empaquetamiento y una superficie pulida.



### III. 3. MEDIDA DEL POTENCIAL.

Todas las medidas de pH y de potenciales de electrodo se realizan con los pH-metro/ionómetros de Metrohm usando un electrodo de doble unión como electrodo de referencia y un electrodo combinado de pH. El electrodo selectivo de cobre de Metrohm se utiliza para corroborar los resultados obtenidos en las distintas aplicaciones llevadas a cabo con los sensores potenciométricos de cobre investigados. La celda de medida se termostatiza a  $25 \pm 1^\circ$  C.

Antes de realizar cualquier medida, para **activar el sensor potenciométrico**, este se sumerge durante al menos 15 minutos en disolución del electrolito soporte que se empleará en el correspondiente experimento. Transcurrido ese tiempo el sensor se lava con agua ultrapura y se sumerge ya en la disolución de medida, que contiene el patrón o la muestra a analizar en el mismo electrolito soporte que el empleado para llevar a cabo la activación.

La medida del potencial con los distintos sensores desarrollados se lleva a cabo en disoluciones que contienen una concentración fija de electrolito soporte,  $\text{NaNO}_3$  0.1 M, para mantener constante la fuerza iónica de la disolución en el transcurso del experimento. Para controlar el pH, las disoluciones se preparan en medios tamponados, evitando así variaciones en el valor de este parámetro mientras se realiza un determinado estudio. Los valores de pH de 4.2 y 4.8 se consiguen mediante el empleo de disoluciones reguladoras de ácido acético / acetato sódico ( $\text{HAc}/\text{NaAc}$ ) en concentración 0.01 M. Para mantener el pH de la disolución en un valor de 6.0 se emplean disoluciones 0.01 M de PIPES. Este compuesto es un derivado N-sustituido del ácido aminosulfónico, que pertenece a una clase de tampones denominada en inglés ‘zwitterionic’, es decir una especie que tiene una carga negativa y otra positiva en su estructura. Esta clase de tampones cubre el intervalo de pH comprendido entre 6 y 9, y no presentan propiedades complejantes hacia las especies metálicas, como ocurre con los tampones de pH clásicos utilizados en este intervalo [125-128]. La ausencia de tampones ‘zwitterionic’ para valores de pH entre 4 y 5 hace necesario el empleo de disoluciones reguladoras de pH clásicas como el tampón  $\text{HAc}/\text{NaAc}$ . El acetato puede formar complejos lábiles con los metales, pero para la concentración y valor de pH empleado, estos complejos

no afectan apreciablemente a las respuestas de los sensores y las sensibilidades alcanzadas son adecuadas.

Para evaluar las características de la respuesta potenciométrica de los sensores se emplea el método de las adiciones. Se adicionan pequeños volúmenes, microlitros, de disoluciones patrón del correspondiente catión metálico de concentraciones comprendidas entre  $1.00 \times 10^{-1}$  y  $1.00 \times 10^{-5}$  M, a 50.0 ml de disolución del electrolito adecuado, de manera que la actividad del correspondiente ión en esta disolución se encuentra comprendida dentro del intervalo  $2.2 \times 10^{-9}$  y  $3.0 \times 10^{-3}$  M. Para garantizar el equilibrio de la disolución de medida, esta permanece en agitación constante. La medida del potencial se realiza cuando éste permanece estable o bien a tiempo fijo, después de realizar cada adición.

Para calcular la actividad de los iones es necesario conocer el coeficiente de actividad ( $f$ ) y la concentración del ión en la disolución. El valor del coeficiente de actividad de cada uno de los iones se calcula de acuerdo la ecuación de Debye-Hückel [3, 81]:

$$\log f = -Az^2 \sqrt{\mu} / (1 + \sqrt{\mu}) \quad (1)$$

donde  $\mu$  es la fuerza iónica,  $z$  la carga del ión y  $A$  una constante que depende de la temperatura y del disolvente (en agua, a 25° C tiene un valor de  $A = 0.511$ ).

#### III. 3.1. Medidas potenciométricas para el análisis de mezclas.

Para comprobar la posibilidad de determinar mezclas de metales mediante sistemas de varios sensores, se realizan medidas potenciométricas en disoluciones que contienen los metales cobre (II) y mercurio (II), en concentraciones comprendidas entre  $1.00 \times 10^{-5}$  y  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M como electrolito soporte.

Para llevar a cabo el análisis se siguen dos estrategias. En la primera, antes de comenzar cada conjunto de medidas, se renuevan la superficie de los sensores. En la segunda

estrategia, se activan los sensores antes de cada serie de medidas. La activación del sensor TETDS se realiza sumergiéndolo en una disolución de cobre (II)  $1.00 \times 10^{-2}$  M durante 2 horas, mientras que el sensor DTS se activa sumergiéndolo en una disolución de mercurio (II)  $5.00 \times 10^{-3}$  M también durante 2 horas.

Además, como parámetro de calibración adicional se determina el pH. Así, pueden corregirse las alteraciones del potencial de los sensores producidos por los distintos valores de pH de las muestras.

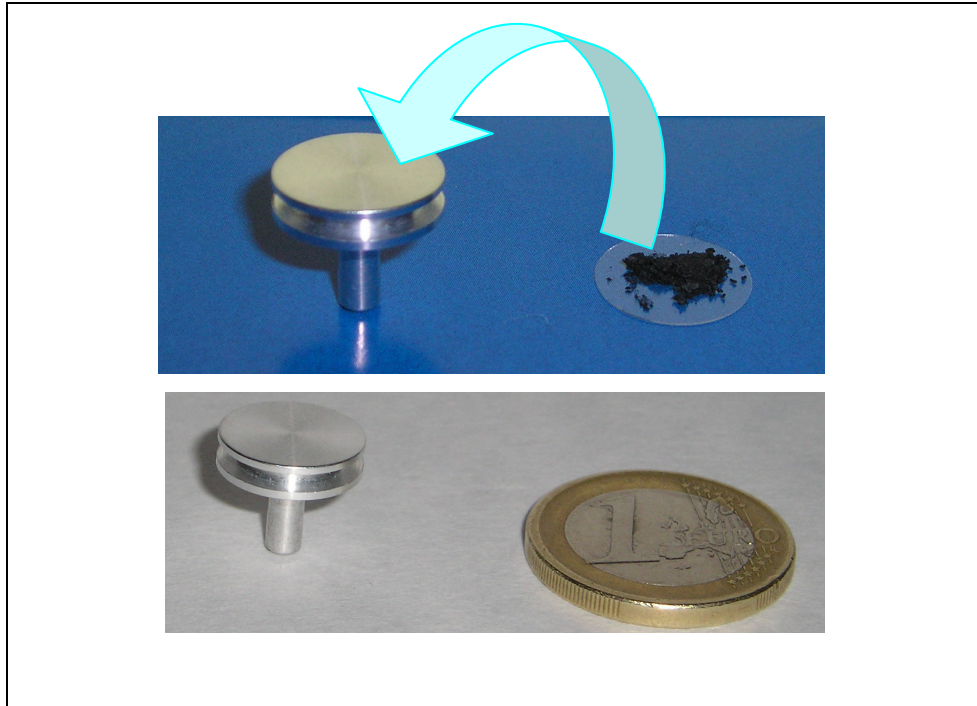
Las medidas potenciométricas se realizan a un tiempo prefijado de 10 minutos, alternándose siempre la medida de disoluciones de calibrado y de muestras.

### III. 4. ANÁLISIS DE LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES POTENCIOMÉTRICOS MEDIANTE SEM-EDAX.

Para realizar el análisis de la superficie de los sensores mediante SEM-EDAX se depositan sobre discos de plástico de 1 cm de diámetro y 1 mm de espesor, las pasta de carbón preparadas tal y como se explica en el apartado III. 2.

Con el fin de simular el proceso que tiene lugar en la superficie del sensor durante la medida potenciométrica, las pastas de carbón depositadas en el disco se ponen en contacto con disolución que contiene el correspondiente metal en concentración  $1.00 \times 10^{-3}$  M, en las mismas condiciones de pH y electrolito soporte en las que se efectúa el análisis potenciométrico del analito en cuestión. Transcurrido un tiempo de 30 minutos, los discos que contienen la pasta de carbón se extraen de la disolución de plomo (II), cobre (II) o mercurio (II), se lavan cuidadosamente con agua ultrapura y se secan a 30° C. Cuando se ha eliminado totalmente la humedad de las pastas, los discos de plástico sobre los que están depositados las pastas modificadas se adhieren sobre un soporte metálico para su introducción dentro del instrumento (Figura 4).

Para aumentar la conductividad y obtener resultados más precisos en el análisis con el microscopio, se lleva a cabo la metalización con oro, a vacío, de las muestras que no presentan valores adecuados de conductividad. Las muestras que van a ser analizadas se preparan utilizando pasta de carbón base y pastas de carbón modificadas con un 24.1 % del ligando DTS y TS, respectivamente.



**Figura 4.** Soporte metálico y muestra de pasta de carbón utilizados en los análisis SEM-EDAX.

### III. 5. MEDIDAS VOLTAMPEROMÉTRICAS PARA EL CÁLCULO DE LA CONSTANTE DE FORMACIÓN DE LOS COMPLEJOS EN LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES.

Los estudios que se han realizado en el presente trabajo para determinar la constante de formación del complejo en la superficie del correspondiente sensor, están basados en la determinación de la concentración de metal acumulada en la superficie de los sensores mediante medidas voltamperométricas de redisolución. La medida se efectúa en dos etapas: una primera etapa donde se realiza la preconcentración del analito sobre la superficie del sensor y una segunda etapa donde se determina la cantidad de metal acumulado en dicha superficie mediante voltamperometría de redisolución anódica de barrido lineal cíclico utilizando el potenciostato  $\mu$ -Autolab. La preconcentración de los metales se realiza a tiempo controlado en disoluciones agitadas a 1000 rpm que contienen distintas concentraciones de los cationes metálicos, preparadas en las mismas condiciones en las que se lleva a cabo la determinación potenciométrica de estos metales con estos mismos sensores. Después de la etapa de acumulación, el sensor se extrae de la disolución de acumulación, se sumerge en una segunda célula que contiene disolución de HCl 0.1 M como electrolito soporte, y se lleva a cabo la medida voltamperométrica para determinar la concentración de metal acumulada en la superficie del mismo.

En el caso de los **iones cobre (II)**, la etapa de preconcentración se realiza, a distintos tiempos, sobre 25.0 ml de disoluciones de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  de concentraciones comprendidas entre  $1.00 \times 10^{-5}$  M y  $1.00 \times 10^{-4}$  M, en  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0), con lavado y traspaso del electrodo a la disolución de medida. Para la medida voltamperométrica, en primer lugar se aplica un potencial de reducción de -0.800 V durante 40 s, y posteriormente se realiza un barrido hacia potenciales positivos, a una velocidad de barrido de 500 mV/s, entre -0.800 V y 0.800 V cuando la medida se realiza con el sensor DTS, o 0.500 V cuando se utiliza el sensor TS, evitando así la oxidación electroquímica del ligando presente en la superficie del electrodo.

En la preconcentración de los **iones mercurio (II)** se emplearon disoluciones que contenían concentraciones de mercurio (II) entre  $1.00 \times 10^{-6}$  M y  $1.10 \times 10^{-5}$  M,  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y

disolución reguladora HAc/NaAc 0.01 M (pH = 4.8). El potencial de reducción aplicado antes de comenzar el barrido en la etapa de medida es también de -0.800 V, durante 20 s. El resto de las condiciones de la etapa de medida coinciden con las elegidas en el análisis del cobre (II).

La determinación de los **iones plomo (II)** se realiza a dos valores de pH (4.2 y 6.0). En este caso los 25.0 ml de disolución contienen concentraciones de plomo (II) que varían entre  $1.00 \times 10^{-5}$  M y  $1.00 \times 10^{-3}$  M, en medio  $\text{NaNO}_3$  0.1M. Dependiendo del pH al cual se realice la acumulación de la especie metálica en la superficie del electrodo, estas disoluciones además contiene una concentración 0.01 M de un tampón de pH (PIPES para pH 6.0 y HAc/NaAc para pH 4.2). En la etapa de medida se aplica un potencial de reducción -1.00 V durante 60 s antes de comenzar el barrido de potenciales a una velocidad de 500 mV/s entre -1.00 V y 0.800 V ó 0.500 V dependiendo del sensor utilizado.

Después de registrar el voltamperograma es necesaria la regeneración de la superficie del mismo. La regeneración se lleva a cabo mediante la aplicación del potencial más positivo durante 100 segundos, repitiéndose el proceso hasta comprobar mediante barridos sucesivos la eliminación completa del metal en la superficie del electrodo.

### III. 6. VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS.

#### III. 6.1. Metodología de la valoración potenciométrica de los ligandos receptores.

Para calcular las constantes de acidez de los ligandos DTS y TS se realiza la valoración ácido-base de los mismos. Los dos ligandos son insolubles en disolución acuosa, por lo que se preparan 50.00 ml de disolución de concentración  $1.00 \times 10^{-3}$  M de cada uno de los ligandos en 50 % de metanol. Se coloca la disolución en la celda electroquímica de medida y se introduce el electrodo de pH. La valoración se realiza con agitación constante, adicionando pequeñas cantidades de NaOH 0.1 M que previamente ha sido estandarizada con ftalato ácido de potasio. El pH de la disolución se registra después de cada una de las adiciones de NaOH.

#### III. 6.2. Metodología de la valoración potenciométrica de los cationes metálicos con AEDT.

Las valoraciones potenciométricas de los iones plomo (II), cobre (II) y mercurio (II) con AEDT se llevan a cabo adicionando pequeños volúmenes de disolución de este agente complejante sobre una disolución de concentración conocida del correspondiente catión metálico.

Para los iones cobre (II) se prepara 50.0 ml de una disolución de la especie metálica en concentración  $1.00 \times 10^{-3}$  M que contiene  $\text{NaNO}_3$  0.1 M como electrolito soporte y PIPES 0.01 M como tampón de pH 6.0. Se introducen el electrodo de referencia y el correspondiente electrodo indicador que se va a emplear y se mide el valor del potencial de la disolución con agitación constante y a una temperatura de 25° C. Sobre esta disolución se realizan adiciones de pequeños volúmenes de AEDT en concentración 0.0750 M, y se anotan los nuevos valores de potencial obtenidos.

El procedimiento seguido en la valoración de mercurio (II) con AEDT es prácticamente el mismo que para los iones cobre (II). En este caso, dependiendo de si se



utiliza como electrodo indicador el modificado con el ligando DTS o con el ligando TETDS, se prepara de distinta forma la disolución de mercurio (II). Así, cuando la valoración se registra con el sensor potenciométrico DTS, la disolución a valorar contiene una concentración de mercurio (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y  $\text{HAc/NaAc}$  0.01 M como electrolito soporte y tampón de pH 4.8, respectivamente. Si se emplea el sensor TETDS esta disolución contiene la misma concentración de mercurio (II) y de electrolito soporte, pero se emplea como disolución reguladora de pH 6.0 PIPES en concentración 0.01 M.

La valoración de los iones plomo (II) se realiza empleando una disolución de concentración  $1.00 \times 10^{-2}$  M que contienen como electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y como tampón de pH 6.0 PIPES 0.01 M. La valoración se realiza adicionando sobre 50.0 ml de esta disolución pequeños volúmenes de AEDT en concentración 0.2000 M.

### **III. 6.3. Metodología de la valoración potenciométrica de los ácidos húmicos.**

#### **III. 6.3.1. Cálculo del peso equivalente de los ácidos húmicos.**

Para el cálculo de las constantes de interacción entre los metales y los ácidos húmicos es necesario conocer la concentración molar del ligando en la disolución de medida. Los pesos moleculares de las sustancias húmicas varían mucho y normalmente no se conocen ya que estos ácidos suelen ser una mezcla de macromoléculas. Así, la concentración de estos ácidos generalmente se expresa en términos de concentración molar de grupos carboxílicos determinados mediante valoración con una base [124]. El punto final para la ionización de los grupos carboxílicos en las curvas de valoración de las sustancias húmicas se elige a un valor de pH de 7.0 [124, 129]. Se elige este pH porque a ese valor todos los grupos carboxílicos están desprotonados, mientras que los grupos fenólicos se encuentran todavía protonados [130].

Las valoraciones ácido-base de los ácidos húmicos se realizan en disoluciones de los ácidos en concentración 1.00 g/l, preparadas como se indica en el epígrafe III. 1.3. Antes de

comenzar la valoración, sobre 50.0 ml de esta disolución se adicionan pequeños volúmenes de ácido clorhídrico, para disminuir el pH de la misma hasta un valor próximo a 2.5 ó 3.0. La valoración se realiza adicionando sobre la disolución del ácido húmico pequeños volúmenes de una disolución de NaOH 0.1 M que previamente ha sido normalizada frente a ftalato ácido de potasio.

El exceso de ácido mineral añadido se valora junto con los grupos ácidos carboxílicos de los ácidos húmicos. Por tanto, para determinar correctamente la concentración molar de los grupos carboxílicos en los ácidos húmicos hay que tener en cuenta el volumen de base que se ha gastado en la neutralización del exceso de ácido mineral fuerte añadido antes del comienzo de la valoración. La determinación de la cantidad de NaOH empleada en esta neutralización se calcula empleando el método de Gran [124, 131].

El método de Gran se utiliza cuando hay un exceso de ácido mineral en la disolución de medida. Consiste en representar gráficamente  $10^{-pH(V_0+V)}$  versus  $V$ , donde,  $V_0$  es el volumen inicial de la disolución antes de comenzar la valoración y  $V$  es el volumen de NaOH añadido en cada punto de la valoración. En la representación se obtienen dos tramos lineales con distintas pendientes. El punto de corte de los dos tramos indica el volumen de disolución de NaOH necesario para neutralizar el exceso de ácido añadido.

### III. 6.3.2. Estimación de las constantes de interacción metal-ácido húmico.

En todas las valoraciones de ácidos húmicos realizadas se sigue el mismo procedimiento. Antes de comenzar la valoración se realiza la calibración del sensor que va a emplearse con el metal correspondiente para comprobar la respuesta potenciométrica que presenta en las condiciones seleccionadas para realizar el experimento.

Tras comprobar que la respuesta obtenida es correcta se realiza la valoración de acuerdo al siguiente procedimiento: sobre 50.0 ml de disolución del ácido húmico (0.3 g/l) preparadas en las mismas condiciones de pH y fuerza iónica que las utilizadas en el calibrado, se adicionan cantidades crecientes de metal micropipeteando distintos volúmenes de

disoluciones patrón del ión metálico correspondiente. Se deja el tiempo suficiente para que se produzca la reacción y se mide el potencial. La medida se lleva a cabo con agitación constante, termostaticando la célula electroquímica de medida a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  con ayuda de un baño.

### III. 7. PREPARACIÓN Y ANÁLISIS DE MUESTRAS.

#### III. 7.1. Aceites lubricantes residuales.

Para analizar el contenido de hierro, cobre y plomo en aceites lubricantes residuales se lleva a cabo inicialmente la digestión de la muestra en un horno microondas. Las muestras analizadas son aceites residuales procedentes de un automóvil, un avión y una prensa hidráulica sometida a altas temperaturas. Se pesan, con precisión de 0.1 mg, unos 0.15 g del aceite residual y se tratan con 5.0 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado y 1.0 ml de  $\text{HCl}$  concentrado en un digestor de cuarzo. La digestión se lleva a cabo en cuatro etapas, primero se aplican 300 W de potencia durante 4 minutos, luego se va aumentando la potencia desde 400W hasta 600 W durante 6 minutos, después se aplican 800 W durante 15 minutos y por último se enfría la muestra durante al menos 15 minutos sin aplicación de potencia. La temperatura y la presión deben controlarse en todas las etapas del proceso de digestión para que no sobrepasen los valores de 300 °C y 75 bar respectivamente. La disolución del digestor se transfiere a un matraz volumétrico de 25.00 ml que se completa al volumen final con agua ultrapura.

La disolución obtenida tras la digestión de la muestra se utiliza directamente, sin necesidad de realizar ningún otro tratamiento, para determinar la concentración de hierro, plomo y cobre total mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica. El análisis se lleva a cabo, utilizando una llama aire-acetileno, en las condiciones experimentales recomendadas por el fabricante para cada uno de los metales. De este modo, la determinación de hierro se realiza a 248.3 nm con una rendija de 0.2 nm, mientras que el análisis de plomo y cobre se realizan a 283.3 y 324.8 nm, respectivamente con una rendija de 0.5 nm en ambos casos.

Para analizar el contenido cobre del aceite lubricante residual mediante potenciometría directa, empleando los sensores que se desarrollan en esta memoria, es necesario neutralizar y diluir la muestra. La neutralización del exceso de ácido que contiene, se lleva a cabo adicionando disolución de  $\text{NaOH}$  1.0 M sobre 5.00 ml de disolución de la muestra. A continuación, se añade la cantidad necesaria de electrolito soporte, de disolución reguladora de pH y de agua ultrapura para obtener 50.0 ml de disolución que contenga una concentración de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y de PIPES 0.01 M (pH 6.0). La medida potenciométrica se realiza

directamente sobre esta última disolución, empleando el sensor potenciométrico de cobre desarrollado en esta memoria, con agitación constante y termostalizando a  $25\pm 1^\circ\text{C}$ .

### **III. 7.2. Aleación de plomo-estaño.**

Para llevar a cabo la determinación de plomo en aleaciones comerciales de bajo punto de fusión utilizadas para soldadura, se realiza una digestión previa de la muestra. El estudio se lleva a cabo con una muestra de una aleación de soldadura comercializada por Save (España) que contiene como componentes mayoritarios plomo y estaño. El procedimiento seguido consiste en pesar una cantidad de muestra (en torno a los 0.2 g), añadirle 10 ml de agua ultrapura y 5 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado y calentarlo hasta conseguir la completa digestión de la aleación y la aparición de una pequeña cantidad de precipitado blanco (ácido metaestánico). La disolución se evapora hasta reducir su volumen a una cantidad mínima. Después se filtra en frío, se lava el precipitado con disolución de ácido nítrico al 1 % y el filtrado y la disolución de los lavados se llevan a un matraz volumétrico de 25.00 ml añadiendo disolución de ácido nítrico al 1 % hasta completar su volumen.

El análisis del contenido en plomo de la muestra se lleva a cabo por espectrofotometría de absorción atómica en llama y por potenciometría directa. Para realizar el análisis mediante AAS, la disolución obtenida tras el tratamiento descrito se diluye al volumen adecuado con  $\text{HNO}_3$  al 1 %. Las condiciones instrumentales seleccionadas para realizar la medida son las mismas que las utilizadas en los análisis de los aceites lubricantes residuales.

La determinación potenciométrica del contenido en plomo de la aleación se realiza utilizando el método de adición estándar. La disolución obtenida tras la digestión de la muestra se diluye con disolución de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y ácido acético/acetato sódico 0.01 M, utilizados como electrolito soporte y disolución reguladora de pH 4.2, respectivamente. Se introducen 50.0 ml de la disolución de plomo diluída dentro de la celda electroquímica, y se mide el valor del potencial con agitación constante y a una temperatura de  $25\pm 1^\circ\text{C}$ . Sobre esta disolución se adicionan 0.200 ml de disolución patrón de  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  0.0100 M y tras

esperar 5 minutos, se anota el nuevo valor del potencial obtenido cuando la media se realiza en las mismas condiciones experimentales.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**





#### **IV. 1. DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS SENSORES.**

Para evaluar la utilidad analítica de los sensores potenciométricos desarrollados, se establecen sus parámetros analíticos básicos. En primer lugar, se preparan pastas de carbón con distintos porcentajes de modificador con el fin de establecer la composición más adecuada para la preparación de los sensores. Después se evalúa la dependencia del valor del potencial de los electrodos con el pH de la disolución para elegir las condiciones óptimas de trabajo. A continuación se determinan las características de las respuestas potenciométricas de los sensores en función de la actividad de los cationes metálicos de la disolución y se calcula el tiempo de respuesta de los mismos en las condiciones óptimas de pH. También se determina el límite de detección alcanzable por los sensores modificados para cada uno de los cationes metálicos ensayados en los estudios previos. En último lugar, se evalúa la selectividad de los sensores potenciométricos de pasta de carbón para cada uno de los cationes metálicos mediante el cálculo de los correspondientes coeficientes de selectividad.

Aunque el desarrollo y aplicación de los distintos sensores potenciométricos se ha llevado a cabo de manera independiente y sucesiva en el tiempo, en esta memoria se ha preferido realizar su descripción de una manera conjunta, pormenorizando para cada ión metálico. De esta forma, pensamos que se pueden apreciar mejor las semejanzas y diferencias del comportamiento potenciométrico que presentan los sensores para todos los iones metálicos ensayados.

##### **IV. 1.1. Influencia de la composición de los sensores sobre la respuesta a los iones ensayados.**

Para comprobar la influencia de la naturaleza del ligando modificador y de la composición de la pasta de carbón en la respuesta potenciométrica de los sensores desarrollados se preparan pastas modificadas con cada uno de los tres ligandos elegidos (DTS, TS y TETDS) variando en ellas el porcentaje de modificador. Las composiciones de las pastas de carbón ensayadas contienen entre 0 – 50 % del correspondiente ligando modificador. Una

vez preparadas, se evalúa la influencia del porcentaje de modificador sobre la respuesta potenciométrica en función de la actividad de los iones plomo (II), cobre (II) y mercurio (II). Se ensayan disoluciones de cada uno de los cationes metálicos mencionados, con valores de actividad dentro del intervalo  $2.2 \times 10^{-9}$  a  $3.0 \times 10^{-3}$  M. El resumen de los resultados obtenidos se refleja en las Tablas 1 a 3.

De forma general, para todos los iones metálicos ensayados el mayor intervalo de respuesta lineal se obtiene con los sensores que contienen alrededor de un 25 % del correspondiente ligando modificador. Además con estos sensores se obtienen respuestas potenciométricas más estables y tiempos de respuesta más cortos.

Con electrodos que contienen pasta de carbón sin modificar se observan ciertas respuestas potenciométricas hacia iones metálicos como el cobre (II) y mercurio (II), aunque no se ha observado en el caso del plomo (II). Dichas respuestas son muy diferentes a las obtenidas con sensores potenciométricos que contienen pastas de carbón modificadas. Los sensores con pastas de carbón modificadas presentan intervalos de concentraciones de trabajo más amplios, tiempos de respuesta más rápidos (aproximadamente 200-100 veces mejores) y respuestas potenciométricas mucho más estables (aproximadamente 10-12 veces mejores), a parte de obtener mejores selectividades hacia el ión ensayado dependiendo de las propiedades del ligando modificador y de ión metálico elegido en cada caso.

Veamos ahora las diferencias del comportamiento de los sensores para cada metal.

### *Respuesta potenciométrica para el cobre*

Las respuestas potenciométricas obtenidas con los sensores de pasta de carbón modificada con distintos porcentajes de ligandos para los iones cobre (II) se muestran en la Tabla 1. Para los iones cobre (II) el intervalo de respuesta lineal obtenido para los sensores potenciométricos de pasta de carbón con un 25 % de ligando modificador es el más amplio. El sensor potenciométrico modificado con el ligando DTS presenta para los iones cobre (II) un comportamiento cuasi-Nerstiano para porcentajes de modificador inferiores o iguales al 25 %. Además, los sensores modificados con un 15.0 y un 25.0 % del ligando DTS son los que

tienen el mayor intervalo de respuesta lineal de entre todos los sensores ensayados incluyendo también los experimentos realizados para los otros iones metálicos.

En los sensores modificados con un 32.2 y 48.1 % de ligando DTS se aprecian dos intervalos de respuesta lineal totalmente diferenciados. Un primer intervalo, a bajas concentraciones, con una pendiente que sobrepasa el doble del valor esperado para la respuesta Nernstiana y el segundo intervalo, para concentraciones más altas, con valores de la pendiente próximos a valores Nernstianos y sub-Nernstianos.

**Tabla 1.** Características de la respuesta potenciométrica para el cobre (II) en función del porcentaje y naturaleza del modificador empleado. Condiciones de medida:  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0).

COBRE			
Ligando	%	Intervalo de respuesta lineal, $\log a_{\text{Cu}}$ (M)	Pendiente, mV/década
---	0	-5.66 a -3.21	27.3
DTS	5.6	-5.66 a -3.21	25.6
DTS	15.0	-7.66 a -3.21	33.7
DTS	24.1	-7.66 a -3.21	27.7
DTS	32.2	-7.18 a -5.18 -5.18 a -3.21	61.5 33.3
DTS	48.3	-7.18 a -5.18 -5.18 a -3.21	76.9 20.7
TS	24.1	-6.18 a -3.21	68.7
TETDS	5.0	-5.66 a -3.21	28.5
TETDS	15.0	-5.66 a -3.21	36.1
TETDS	25.0	-7.18 a -3.21	43.1
TETDS	35.0	-6.18 a -3.21	35.9
TETDS	45.0	-5.66 a -3.21	50.8

Para el ligando TETDS sólo se observa una respuesta Nernstiana cuando el porcentaje de modificador es bajo (5.0 %). Para porcentajes mayores, la respuesta es super-Nernstiana, aunque no llega a ser doblemente Nernstiana. Sin embargo, vuelve a obtenerse un mayor intervalo de respuesta lineal y una mayor sensibilidad cuando el sensor está modificado con un 25 % de ligando.

En el caso del ligando TS sólo se ensaya un porcentaje de modificador similar al valor óptimo para el ligando DTS. Se obtiene también un intervalo lineal de respuesta potenciométrica amplio, pero para este ligando, la respuesta es super-Nernstiana.

### *Respuesta potenciométrica para el plomo*

En el caso de los iones plomo (II) el comportamiento es similar a los iones cobre (II), como se muestra en la Tabla 2. Los sensores de pasta de carbón con un porcentaje de modificador del 25 % presentan el mayor intervalo de respuesta lineal. Tanto el ligando DTS como el TS presentan comportamientos sub-Nernstianos a pH 4.2, en cambio cuando la medida del potencial se realiza a pH 6.0 este comportamiento es mucho más cercano al Nernstiano. Entre ambos sensores, el modificado con el ligando TS es el que posee un menor intervalo de respuesta lineal. El sensor modificado con el ligando TETDS presenta una respuesta potenciométrica muy lenta e inestable en comparación con la obtenida para los otros dos ligandos, además de poseer un intervalo de respuesta lineal más corto y una menor variación del potencial en función de la actividad de los iones plomo (II).

**Tabla 2.** Características de la respuesta potenciométrica para el plomo (II) en función del porcentaje y naturaleza del modificador empleado. Condiciones de medida:  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.2) ó PIPES 0.01 M (pH 6.0).

PLOMO			
Ligando	% <sup>a</sup>	Intervalo de respuesta lineal, $\log a_{\text{Pb}}$ (M)	Pendiente, mV /década
DTS	5.6	-5.22 a -3.67	14.7
DTS	15.0	-5.22 a -3.21	19.9
DTS	24.1	-7.18 a -3.21	21.8
DTS	24.1 (pH 6.0)	-5.22 a -3.21	27.6
DTS	32.2	-5.71 a -3.21	10.4
DTS	48.3	-4.70 a -3.21	17.2
TS	24.1	-7.18 a -3.67	11.8
TS	24.1 (pH 6.0)	-5.71 a -3.21	23.8
TETDS	25.0 (pH 6.0)	-6.18 a -3.21	17.3

<sup>a</sup> pH de medida 4.2 (a no ser que se indique lo contrario).

### *Respuesta potenciométrica para el mercurio*

El mercurio muestra un comportamiento similar al de los otros metales en cuanto al intervalo de respuesta lineal. Como se observa en la Tabla 3, el mejor límite de detección se obtiene para el sensor modificado con un 24.1 % de DTS, aunque en este caso el sensor potenciométrico modificado con un 25.0 % del ligando TETDS es el que presenta un mayor intervalo lineal de respuesta. A diferencia de los iones cobre (II) y plomo (II), el mercurio (II) presenta casi siempre respuesta super-Nernstiana, especialmente en el caso de los ligandos TS y TETDS.

La diferencia obtenida entre las respuestas potenciométricas de los metales se debe a la gran afinidad de los iones mercurio hacia los donadores blandos. Los grupos  $-\text{SH}$  y  $=\text{S}$  muestran gran afinidad hacia los iones mercurio (II) frente a otros cationes metálicos, debido a que el mercurio (II) es un “ácido blando” que formará complejos muy estables con “bases

blandas”, como los sulfuros. De hecho los ligandos que no contienen átomos de azufre en su estructura no poseen alta selectividad hacia estos cationes [72].

Cuando se comparan las respuestas obtenidas por los sensores DTS y TETDS hay que tener en cuenta los heteroátomos presentes en los ligandos. Los dos compuestos presentan átomos de azufre en su estructura, además de átomos de nitrógeno en el TETDS y átomos de oxígeno en el DTS. Los átomos de nitrógeno tienen un carácter más “blando” que los de oxígeno [70]. Este comportamiento podría explicar los mayores intervalos de respuesta obtenidos por el sensor modificado con el ligando TETDS a todos los porcentajes de modificador.

Por otro lado, comparando las respuestas obtenidas para los sensores potenciométricos modificados con un 25 % de ligando, el electrodo modificado con TS es el que presenta una mayor sensibilidad (mayor pendiente de la recta de calibrado) hacia los iones mercurio, siendo la mayor de todas las obtenidas en todos los experimentos realizados.

**Tabla 3.** Características de la respuesta potenciométrica para el mercurio (II) en función del porcentaje y naturaleza del modificador empleado. Condiciones de medida:  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y  $\text{HAc/NaAc}$  0.01 M (pH 4.2, ligandos DTS y TS) ó PIPES 0.01 M (pH 6.0, ligando TETDS).

MERCURIO			
Ligando	%	Intervalo de respuesta lineal, $\log a_{\text{Hg}}$ (M)	Pendiente, mV /década
---	0	-5.18 a -4.19	41.3
DTS	5.6	-5.22 a -4.08	29.5
DTS	15.0	-5.71 a -4.08	34.9
DTS	24.1	-7.66 a -4.70	39.9
DTS	48.3	-5.22 a -4.08	167.9
TS	24.1	-6.62 a -4.08	166.9
TETDS	5.0	-5.18 a -4.19	43.3
TETDS	15.0	-7.18 a -4.19	73.8
TETDS	25.0	-7.18 a -3.67	79.4
TETDS	35.0	-7.18 a -4.67	83.0
TETDS	45.0	-7.18 a -4.19	73.8

#### IV. 1.2. Mecanismo del proceso electródico.

Según Pungor [132] sólo los grupos activos presentes en la interfase membrana-disolución toman parte en la reacción que controla el potencial. Para electrodos potenciométricos basados en precipitados, la diferencia de potencial en dicha interfase es generada por el intercambio iónico de los iones principales [2, 133] y viene expresada por:

$$\Delta_l^m \phi = -\Delta_m^{wt} \phi_{J^+}^0 + \frac{RT}{zF} \ln[a_J(l)/a_J(m)] \quad (2)$$

donde  $\Delta_m^{wt} \phi_{J^+}^0$  es una constante que representa a la diferencia de potenciales estándar (relacionada con  $E^0$ ), y  $a_J(l)$  y  $a_J(m)$  son las actividades del ión  $J$  en la disolución y en la membrana, respectivamente. Si  $a_J(m)$  permanece constante, la diferencia de potencial medida es proporcional a  $\ln a_J(l)$ . Cuando en la membrana hay un receptor (molécula  $X$ ) que forma un complejo con  $J$  de estequiometría 1:1, podemos considerar dos casos:

- i) Si la membrana contiene sólo el complejo, sin exceso de receptor, la constante de formación en la membrana vendrá dada por

$$K_{JX} = \frac{a_{JX}(m)}{a_J(m) \times a_X(m)} = \frac{\gamma_{JX} \gamma_J}{\gamma_X} \frac{C_0}{a_J(m)^2} \quad (3)$$

siendo  $C_0$  la concentración de complejo en la membrana. Despejando  $a_J$  y sustituyendo en la ecuación del potencial

$$\Delta_l^m \phi = -\Delta_m^{wt} \phi_{J^+}^0 + \frac{RT}{zF} \ln a_J(l) - \frac{RT}{zF} \ln \left[ \frac{\gamma_{JX} \gamma_J}{\gamma_X} \frac{C_0}{K_{JX}} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (4)$$

Cuanto mayor sea la constante de formación del complejo, mayor es el potencial medido.

- ii) Si la membrana contiene tanto complejo como un exceso de receptor, las actividades del ión  $J$  y el ligando en la superficie del electrodo son distintas y

$$a_J(m) = \frac{\gamma_{JX} C_0}{K_{JX} \gamma_X C_X} \quad (5)$$

donde  $C_X$  es la concentración de  $X$  libre en la superficie del electrodo. En este caso el potencial depende de la constante y del exceso de  $X$  sobre el electrodo.

$$\Delta_l^m \phi = -\Delta_m^{wt} \phi_{J^+}^0 + \frac{RT}{zF} \ln a_J(l) - \frac{RT}{zF} \ln \left[ \frac{\gamma_{JX}}{\gamma_X} \frac{C_0}{K_{JX} C_X} \right] \quad (6)$$

De acuerdo con la ecuación, al variar la concentración de  $X$  en la interfase variará el potencial. El exceso de ligando podría ser el responsable de la respuesta del electrodo a bajas concentraciones cuando la superficie del electrodo es renovada al inicio de cada conjunto de medidas.

Algunos de los sensores desarrollados en esta memoria presentan respuestas súper-Nernstianas. En anteriores trabajos de electrodos selectivos de iones se ha observado un comportamiento similar que se ha atribuido a distintos procesos. En algunos casos el hecho de obtener una respuesta doblemente Nernstiana se justifica por la formación del complejo de estequiometría 1:1 entre un metal divalente y el receptor correspondiente de la membrana del sensor potenciométrico [134, 135]. Maj-Zurawska y col. y Bakker atribuyen estas respuestas a la diferencia entre las actividades del analito en el seno de la disolución y en la capa de difusión alrededor de la membrana del electrodo selectivo, cuando esta última no contiene inicialmente el analito en cuestión o hay un exceso de receptor en la superficie del electrodo [136, 137]. En otros trabajos este mecanismo de respuesta se explica de forma parecida suponiendo cambios bruscos en condiciones que no son de equilibrio en la interfase disolución/membrana para bajas concentraciones de analito, que desaparecen para altas concentraciones o tiempos mayores, necesarios para alcanzar la situación de equilibrio [138]. La obtención de estas pendientes súper-Nernstianas también se atribuye a la respuesta que presentan electrodos selectivos de cationes divalentes a las especies monovalentes que estos



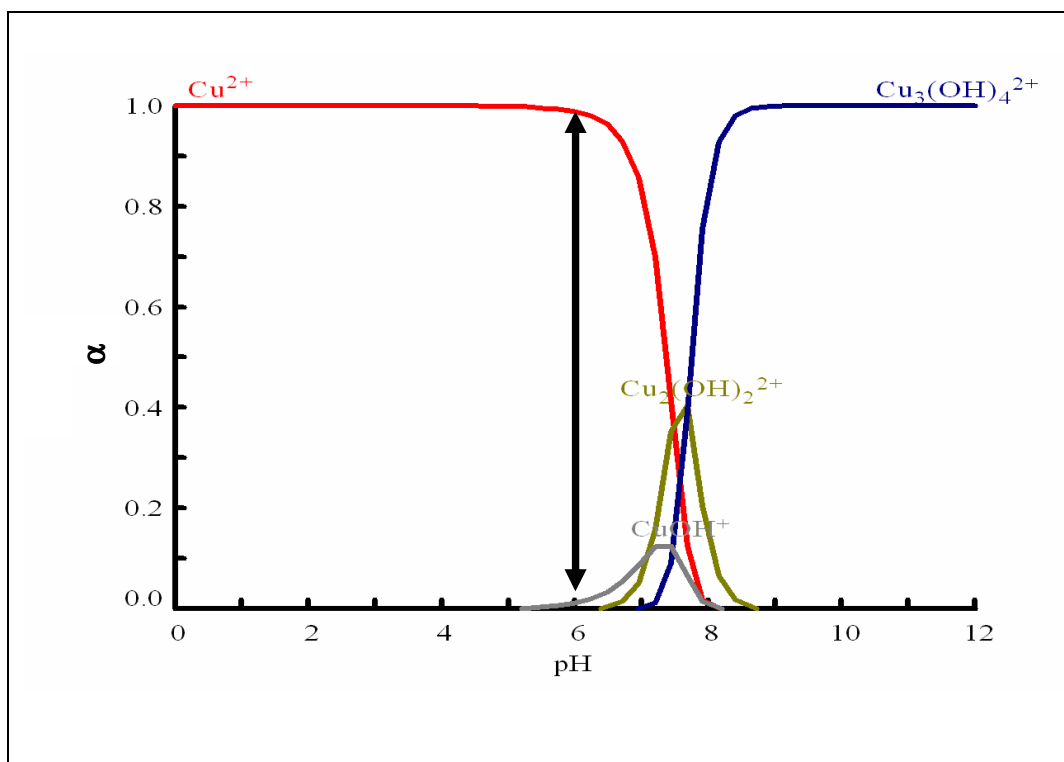
metales pueden formar cuando se enlazan con diferentes ligandos que pueden encontrarse en disolución como  $\text{OH}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  ó  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  [79, 139].

Un comportamiento súper-Nernstiano se observa en diversos sensores basados en pasta de carbón modificada empleados tanto para analizar compuestos orgánicos, como el ácido L-ascórbico [110], cationes alcalinos como el litio (I) [100] o aniones como el ioduro [106]. El mecanismo se ha asociado a procesos de adsorción del analito sobre la superficie del electrodo.

#### *Mecanismo de la respuesta a cobre de los sensores potenciométricos*

Aunque para el sensor modificado con un 24.1% del ligando DTS se observa un comportamiento Nernstiano, para otros porcentajes de este modificador y para los sensores basados en los ligando TS y TETDS se observan comportamientos super-Nernstianos. Estas respuestas potenciométricas no pueden ser debidas a la presencia de especies del cobre de carga menor, ya que en el electrolito empleado en su medida la especie predominante es el ión libre  $\text{Cu}^{2+}$ . En la Figura 5 se muestra el diagrama de distribución de especies de cobre presentes en disolución en función del pH. Los cálculos se realizan utilizando el programa informático Hydra-Medusa.

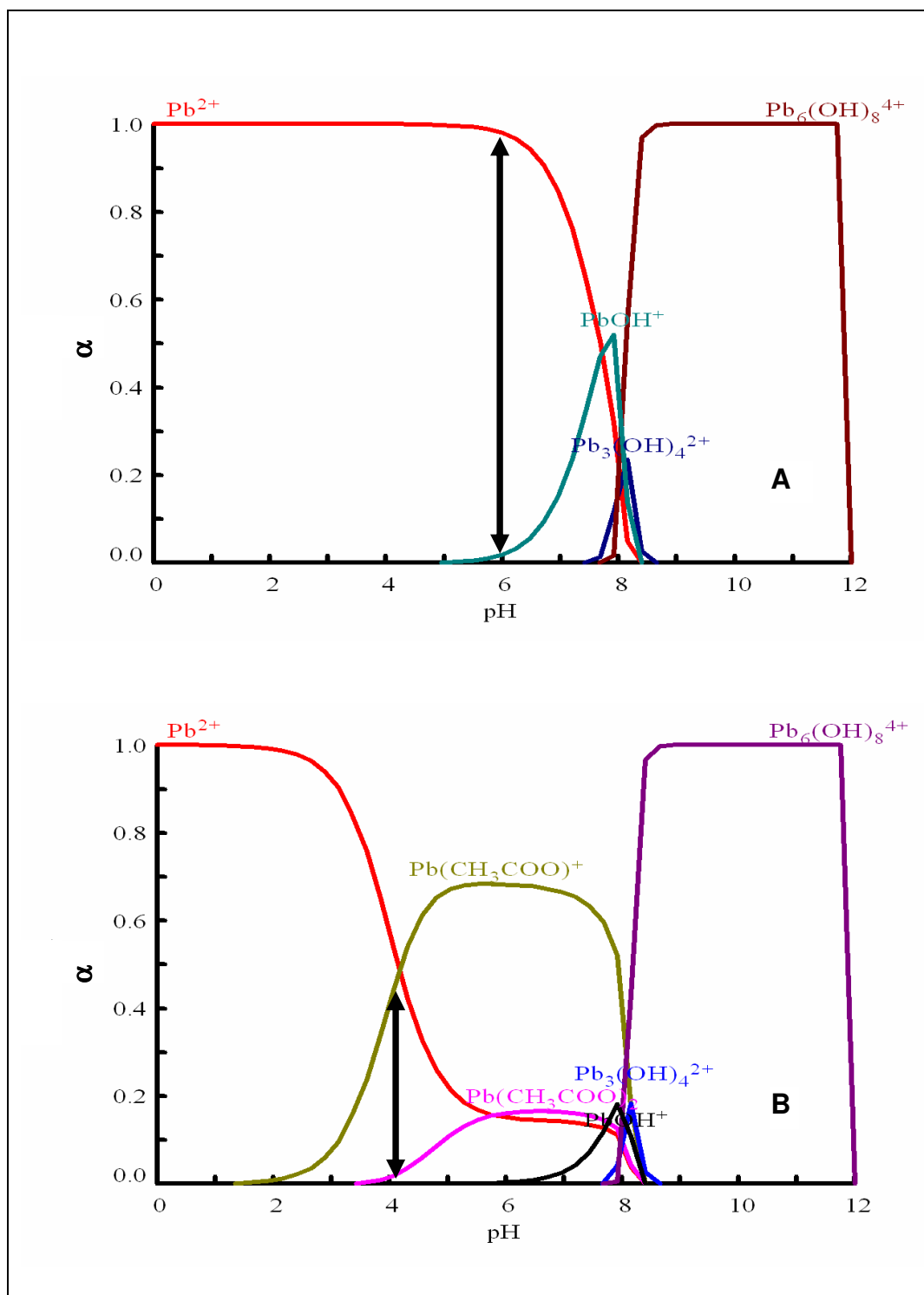
Sin embargo, la respuesta del ión en un sensor de pasta de carbón sin modificar [140] es casi Nernstiana. Este resultado parece indicar que el proceso electródico no es eminentemente por adsorción, sino que puede ser consecuencia del exceso de ligando en la superficie del sensor.



**Figura 5.** Representación de la fracción molar de las especies de cobre (II) en función del pH en presencia de PIPES 0.01M.

### *Mecanismo de la respuesta a plomo de los sensores potenciométricos*

En el caso del plomo, no se ha observado respuesta sobre el electrodo de pasta de carbón sin modificar. Esta respuesta sólo la presentan ciertas especies que son oxidantes fuertes, como Cr(VI), ácido ascórbico, cobre o mercurio [140]. La respuesta sub-Nernstiana obtenida por estos sensores no puede justificarse por la presencia de diferentes especies de plomo (II), ya que la especie predominante a pH 6.0 es el ion libre  $\text{Pb}^{2+}$ , y en disolución reguladora acético/acetato sódico, es la especie  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})^+$ , tal como se refleja en la Figura 6. Sin embargo, la respuesta a pH 6.0 se ajusta más a un comportamiento Nernstiano que la obtenida a pH 4.2, debido quizá a la mayor estabilidad de los complejos que forma el plomo (II) con los ligandos DTS y TS a pH 6.0.

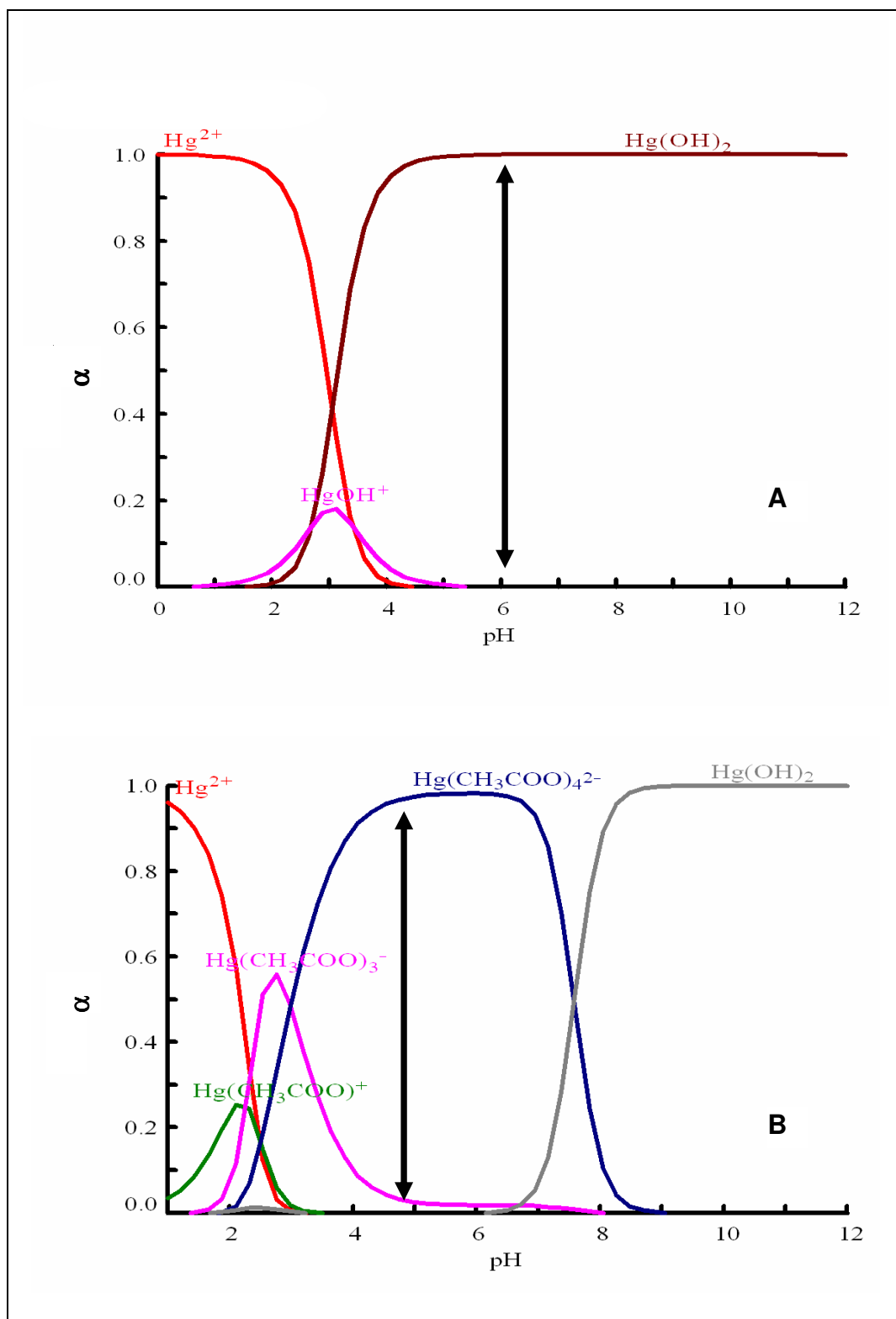


**Figura 6.** Representación de la fracción molar de las especies de plomo (II) en función del pH en presencia de: **A** - PIPES 0.01 M; **B** - HAc/NaAc 0.01 M.

### *Mecanismo de la respuesta a mercurio de los sensores potenciométricos*

El mercurio presenta un comportamiento super-Nernstiano tanto en un sensor de pasta de carbón sin modificar, como en los modificados con los distintos ligandos. El sensor potenciométrico que presenta una mayor pendiente es el modificado con TS (167 mV/década). Las medidas realizadas con los electrodos DTS y TS se realizaron en presencia de acetato 0.01 M. En estas condiciones, y a pH 4.2, la especie predominante del mercurio es el complejo  $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_4^{2-}$ . Como el electrodo presenta la respuesta esperada para especies catiónicas, es razonable suponer que se disocia el complejo con acetato en la superficie del sensor para poder interaccionar el metal con el ligando en el electrodo. Este comportamiento es esperado por el carácter lábil del complejo con acetato y la alta afinidad que muestra el mercurio por los átomos de azufre de los ligandos.

En ausencia de acetato, la especie predominante a pH 6.0 es la especie neutra  $\text{Hg}(\text{OH})_2$  (Figura 7) y como especie iónica predominante aparece  $\text{HgOH}^+$ , en mucho menor concentración. El intercambio en la superficie del electrodo de esta especie monocargada podría justificar en parte el comportamiento super-Nernstiano del electrodo TETDS, pero debe tener también un componente debido a procesos de adsorción sobre la superficie del sensor.



**Figura 7.** Representación de la fracción molar de las especies de mercurio (II) en función del pH en presencia de: **A** - PIPES 0.01 M; **B** - HAc/NaAc 0.01 M.

### IV. 1.3. Dependencia de la respuesta potenciométrica con el pH.

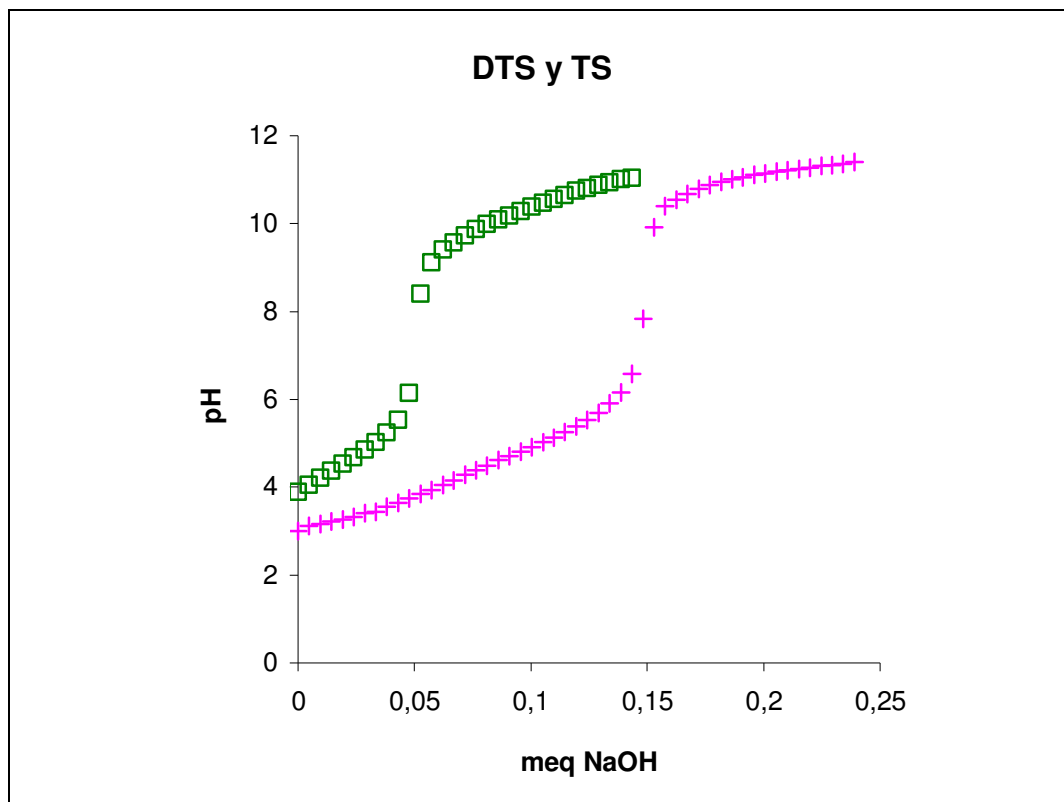
En el presente apartado se realiza el estudio del comportamiento de la respuesta potenciométrica de los sensores en presencia de los iones cobre (II), mercurio (II) y plomo (II) en función del pH de la disolución de medida.

Entre los ligandos utilizados para modificar la pasta de carbón de los sensores, dos de ellos, el DTS y el TS son ácidos débiles. Para relacionar mejor el comportamiento que estos sensores presentan en función del pH del medio con el carácter ácido de los dos ligandos en primer lugar se calculan las constantes de acidez de los ligandos DTS y TS.

#### IV. 1.3.1 Cálculo de las constantes ácido-base de los ligandos.

Para calcular las constantes de acidez de los ligandos DTS y TS se realizan valoraciones ácido-base, con indicador potenciométrico, de estos ligandos en disoluciones que contienen un 50 % de metanol. En la Figura 8 se representan los resultados obtenidos en la valoración de cada uno de los ligandos.

Mediante la aplicación informática “PKAS” incluida por A.E. Martell y col. en el libro “Determination and Use of Stability Constants” [141] se calculan los valores de las constantes de acidez de ambos ligandos. Tras realizar el tratamiento de los datos de cada una de las valoraciones con este programa los resultados obtenidos para cada uno de los ligandos son  $pK_1 = 3.55 \pm 0.14$  y  $pK_2 = 4.14 \pm 0.03$  (dos grupos  $-COOH$ ) para el ligando DTS, y  $pK_1 = 4.74 \pm 0.04$  (grupo  $-COOH$ ) y  $pK_2 = 9.83 \pm 0.02$  (grupo  $-SH$ ) para el ligando TS.



**Figura 8.** Valoración ácido-base de disoluciones  $1.00 \times 10^{-3}$  M de los ligandos DTS (+) y TS (□) en 50 % de metanol.

Con el fin de corroborar la validez de los resultados se comparan los valores de las constantes de disociación obtenidas en este estudio con los datos encontrados en la bibliografía. En la Tabla 4 se muestran los valores de las constantes de disociación del ligando TS obtenidos en otros estudios, así como el medio en el que se llevo a cabo este cálculo. Se observa que tanto para el valor obtenido para la primera constante de disociación ( $pK_1$ ) como para la segunda ( $pK_2$ ) se encuentran resultados muy similares en anteriores estudios. Para el ligando DTS no se han encontrado en la bibliografía datos correspondientes a sus constantes de acidez.

Tras comparar los datos obtenidos con los encontrados en la bibliografía, se deduce que la metodología empleada es válida, obteniendo valores bastante exactos de estas constantes de disociación.

**Tabla 4.** Constantes de disociación ( $pK_1$ , grupo -COOH,  $pK_2$  grupo -SH) del ligando TS.

$pK_1$	$pK_2$	Disolución de medida	Referencia
4.65	9.40	agua-etanol (17.08 mol % etanol)	[121]
4.92	9.44	agua-dioxano (50 vol % dioxano)	[142]
6.50	11.95	agua-dioxano (75 vol % dioxano)	[142]
5.40	9.49	agua-etanol (70 vol % etanol)	[118]
5.44	---	agua-etanol (50 vol % etanol)	[143]
4.6	---	agua-etanol (40 vol % etanol)	[144]
---	9.52	agua-etanol (50 vol % etanol)	[116]
<b>4.74</b>	<b>9.83</b>	<b>agua-metanol (50 vol % metanol)</b>	<b>[*]</b>

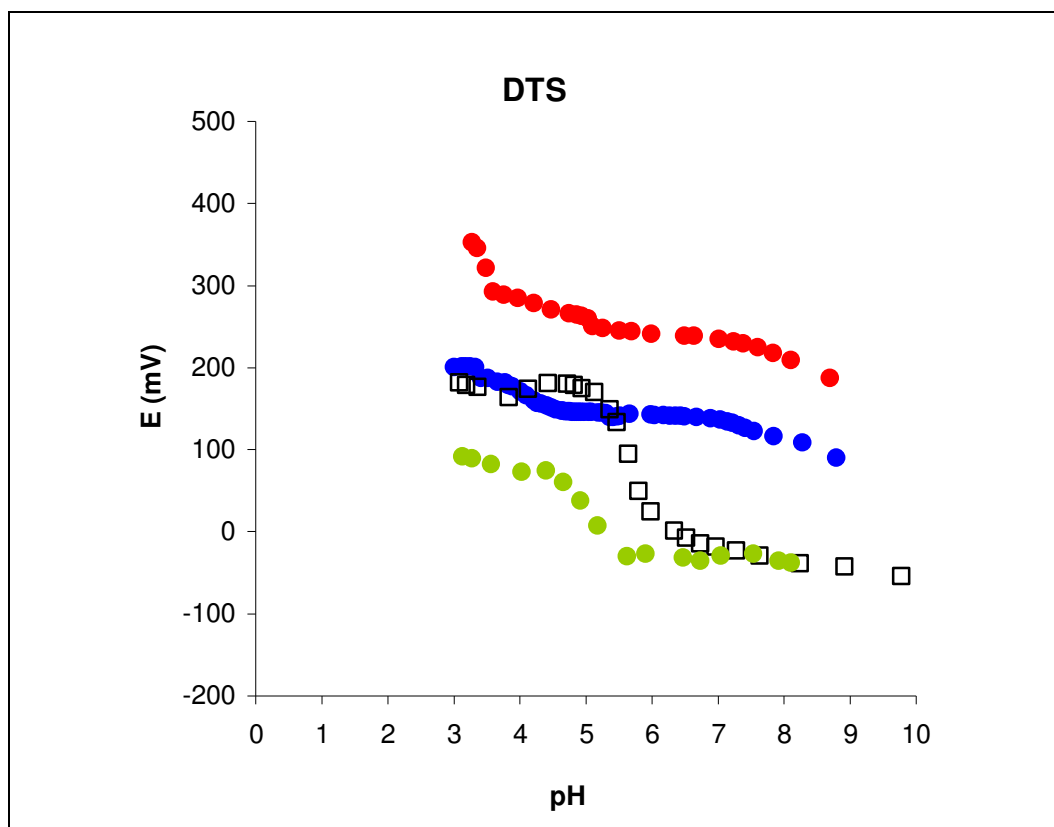
\* Datos obtenidos en esta memoria.

De acuerdo con estos resultados, para valores de pH inferiores a 4.0 los dos grupos carboxílicos del ligando DTS y el único grupo carboxílico del TS están protonados, por lo que la constante de interacción de estos ligandos con los iones metálicos será menor a pH ácidos.

#### IV. 1.3.2 Variación del valor del potencial con el pH de la disolución de medida.

Para estudiar la influencia del valor del pH del medio en la respuesta potenciométrica de los sensores, se preparan disoluciones de concentración  $1.00 \times 10^{-4}$  M de plomo (II), mercurio (II) y cobre (II), respectivamente, en presencia de un electrolito fuerte ( $\text{NaNO}_3$  0.1 M) para mantener constante el valor de la fuerza iónica de la disolución. Sobre estas disoluciones se realizan adiciones de pequeños volúmenes de  $\text{HNO}_3$  diluido o disolución de NaOH diluida de manera que puedan alcanzarse valores de pH comprendidos entre 2 y 10. Después de cada adición de ácido o de base, el valor del potencial y del pH de la disolución se mide cuando la respuesta del sensor potenciométrico se ha estabilizado.





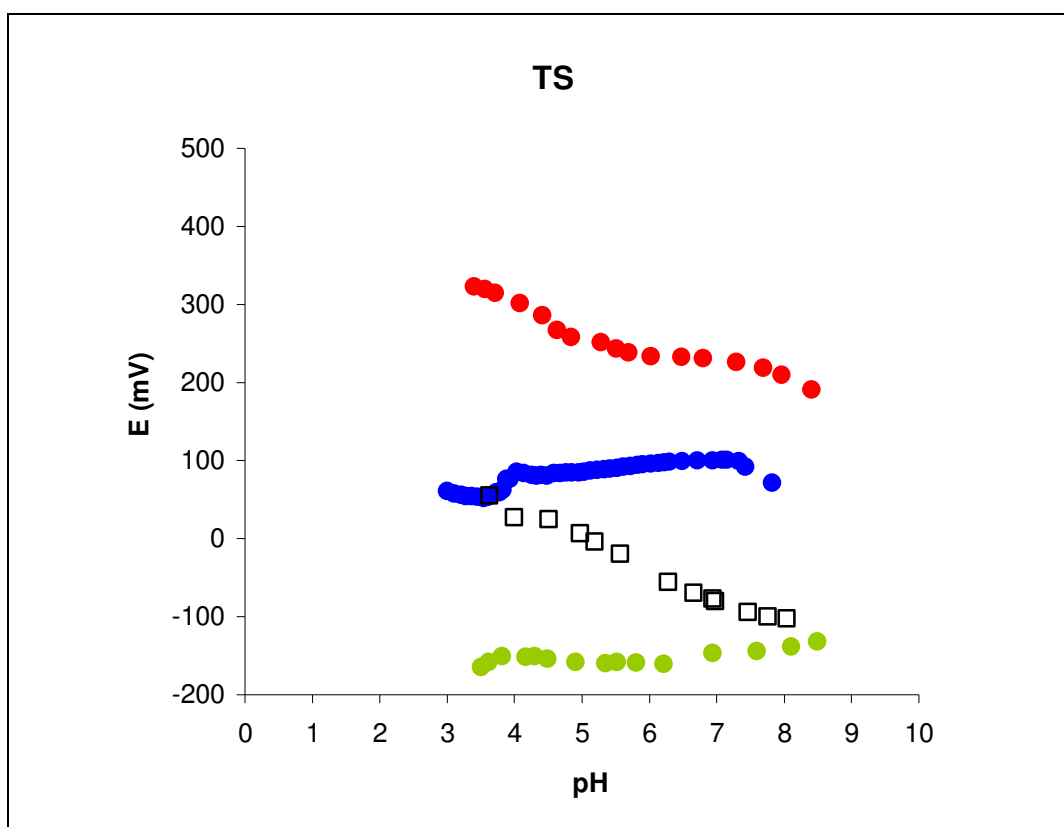
**Figura 9.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % DTS en función del pH, en presencia de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●),  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●),  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●), y en ausencia de iones metálicos en disolución (□). Electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0.1 M

Debido a que los ligandos son ácidos débiles, cabe esperar que los distintos sensores sean sensibles a la variación de la concentración de ión hidrógeno en la disolución. Para estudiar este supuesto, se realizan los mismos estudios anteriormente descritos pero en ausencia del ión metálico en la disolución. De esta manera, se investigará el efecto del ión hidrógeno sobre la respuesta de los sensores. Los resultados obtenidos para ambos estudios se representan en las Figuras 9, 10 y 11 para electrodos modificados con DTS, TS y TETDS, respectivamente

Como se observa en estas tres Figuras, en ausencia de especies metálicas todos los sensores presentan sensibilidad a los cambios en la concentración de protones. Los sensores modificados con los ligandos TS y TETDS presentan un comportamiento muy similar para valores de pH superiores a 3.0 con pendientes de 38 y 36 mV por unidad de pH,

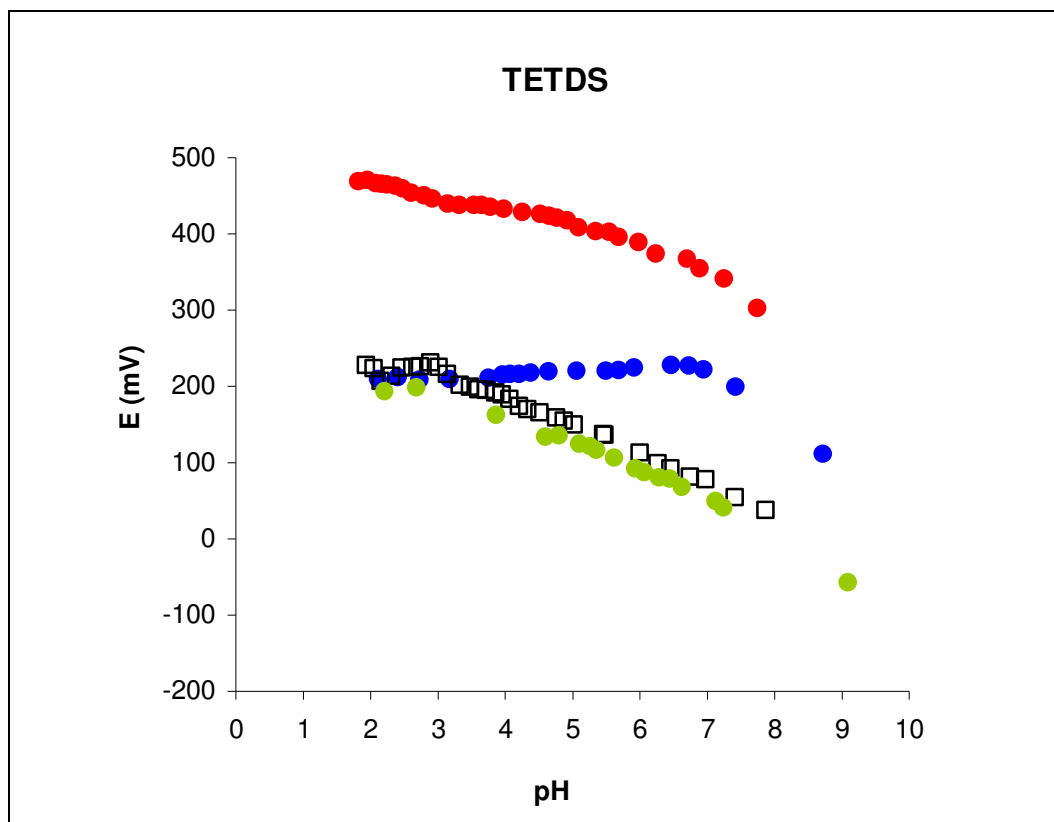
respectivamente. En cambio, el comportamiento del sensor modificado con el ligando DTS es distinto. Para valores de pH inferiores a 5.0 y superiores a 6.5 la variación del potencial con el pH es pequeña e inferior al obtenido con los otros ligandos, pero a valores de pH comprendidos entre 5.0 – 6.5 presenta una variación muy acusada del valor del potencial (pendiente de 125 mV por unidad de pH). Este gran cambio en el valor del potencial corresponde a la pérdida de los dos protones de la molécula.

El valor de las constantes de acidez de los ligandos depende del medio en el que estas han sido calculadas. Por tanto, hay que tener ciertas precauciones cuando se comparan los valores de las constantes ácido-base de los ligandos calculadas en medio hidroalcohólico (50 % metanol), con las variaciones registradas en las respuestas potenciométricas de los sensores cuando se introducen en disolución acuosa en ausencia de especies metálicas.



**Figura 10.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % TS en función del pH, en presencia de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●),  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●),  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●), y en ausencia de iones metálicos en disolución (□). Electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0.1 M.

Para el ligando DTS, el intervalo de pH donde se produce la gran variación de la respuesta potenciométrica se encuentra a valores algo más altos que los que cabría esperar según los valores de las constantes de acidez del ligando ( $pK_1 = 3.55$  y  $pK_2 = 4.14$ ). Esta diferencia puede asociarse a las distintas condiciones en las que se lleva a cabo cada uno de los estudios. La pérdida de un protón del grupo carboxílico del ligando será mucho más fácil cuando el ligando se encuentre en disolución, que cuando se encuentre en fase sólida como modificador del sensor potenciométrico. Por tanto, se puede asociar la gran variación en el valor del potencial del sensor con la pérdida de los dos protones de los grupos carboxilos de la molécula de ligando DTS (pendiente próxima a 120 mV / por unidad de pH).



**Figura 11.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 25 % TETDS en función del pH, en presencia de  $Cu(NO_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●),  $Hg(NO_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●),  $Pb(NO_3)_2$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (●), y en ausencia de iones metálicos en disolución (□). Electrolito soporte  $NaNO_3$  0.1 M.

En el caso del ligando TS, teniendo en cuenta los valores de las constantes de acidez ( $pK_1 = 4.74$  y  $pK_2 = 9.83$ ), el intervalo de pH donde se realiza el estudio y siguiendo el mismo razonamiento que con el ligando DTS, la variación de la respuesta potenciométrica debería ser la correspondiente a la pérdida de un protón (aprox 59 mV / por unidad de pH). Sin embargo, el valor experimental obtenido (38 mV /unidad de pH) es menor que el esperado. De todos modos, en las cercanías de pH 5.0 se observa un mayor cambio del potencial que se justificaría por la pérdida del protón de este grupo funcional.

### *Efecto del pH en la respuesta potenciométrica a cobre*

Los sensores presentan una menor influencia en la respuesta potenciométrica con el cambio del pH del medio cuando están presentes en la disolución los iones cobre (II). Todos los sensores potenciométricos tienen un intervalo de pH donde el valor del potencial permanece prácticamente constante. Estos intervalos son para valores de pH comprendidos entre 4.5 – 7.0 para el sensor DTS, 2.0 – 6.0 para el TETDS y 4.0 – 7.0 para el TS. Los tres sensores potenciométricos muestran desviaciones similares para pH mayores de 7.0. Para estos valores de pH, el potencial de los sensores disminuye debido a la hidrólisis de los iones cobre para formar las especies hidroxiladas.

### *Efecto del pH en la respuesta potenciométrica a plomo*

Los sensores potenciométricos muestran el comportamiento más diferenciado entre ellos cuando el ión plomo (II) está presente en la disolución.

Cuando el modificador utilizado es el DTS el comportamiento observado en presencia de plomo (II) es similar al que presenta en ausencia de especies metálicas (Figura 9), con un intervalo de pH entre 4.4 – 5.5 donde la respuesta potenciométrica está muy influenciada por la variación del pH. En cambio para valores fuera de ese intervalo apenas hay dependencia del valor del potencial del sensor con el pH, especialmente a valores de pH superiores a 5.5.

La influencia del pH en la respuesta del sensor TETDS es mínima para pH inferiores a 3.0, en cambio para valores superiores, el potencial disminuye a medida que aumente el pH de la disolución.

Por último, el sensor potenciométrico modificado con el ligando TS presenta en comparación, una influencia muy baja de la respuesta potenciométrica con el valor del pH de la disolución. De hecho para pH superiores a 3.8 puede considerarse que el valor del potencial es prácticamente independiente del pH.

#### *Efecto del pH en la respuesta potenciométrica a mercurio*

Cuando en la disolución está presente el ión mercurio (II), el comportamiento que presentan los tres sensores es similar, aunque con pequeños matices. Los sensores modificados con los ligandos DTS y TS sufren mayor influencia en el valor del potencial con los cambios de pH, a bajos valores de éste parámetro. Estos cambios son probablemente debidos a la protonación de los ligandos DTS y TS. Comportamientos similares se han observado en otros sensores donde esta variación del pH se asocia a los cambios en la protonación de los compuestos receptores [9-11, 20-22, 24, 28-31, 34, 48, 54-56, 58, 60, 65, 72-75, 145]. Para valores de pH comprendidos entre 5.5 -7.0 no se observa dependencia significativa del valor del potencial en los sensores DTS y TS. La respuesta potenciométrica del sensor modificado con el ligando TETDS disminuye para pH inferiores a 7.0. En cambio, los tres sensores potenciométricos presentan la misma variación del potencial para valores de pH superiores a 7.0. La semejanza en la variación de la respuesta potenciométrica de los tres sensores puede ser debido a la naturaleza de las especies de mercurio y no a las características ácido-base de los ligandos. Las especies hidroxiladas de mercurio deben desprenderse de grupos  $\text{OH}^-$  para intercambiarse en la superficie del sensor potenciométrico. Los cambios observados en el potencial de los sensores en función del pH pueden ser debidos a cambios en las concentraciones de las especies iónicas predominantes en disolución por la formación de las distintas especies hidroxiladas del mercurio [72].

### IV. 1.4. Respuesta potenciométrica de los sensores en función de la actividad de los iones metálicos.

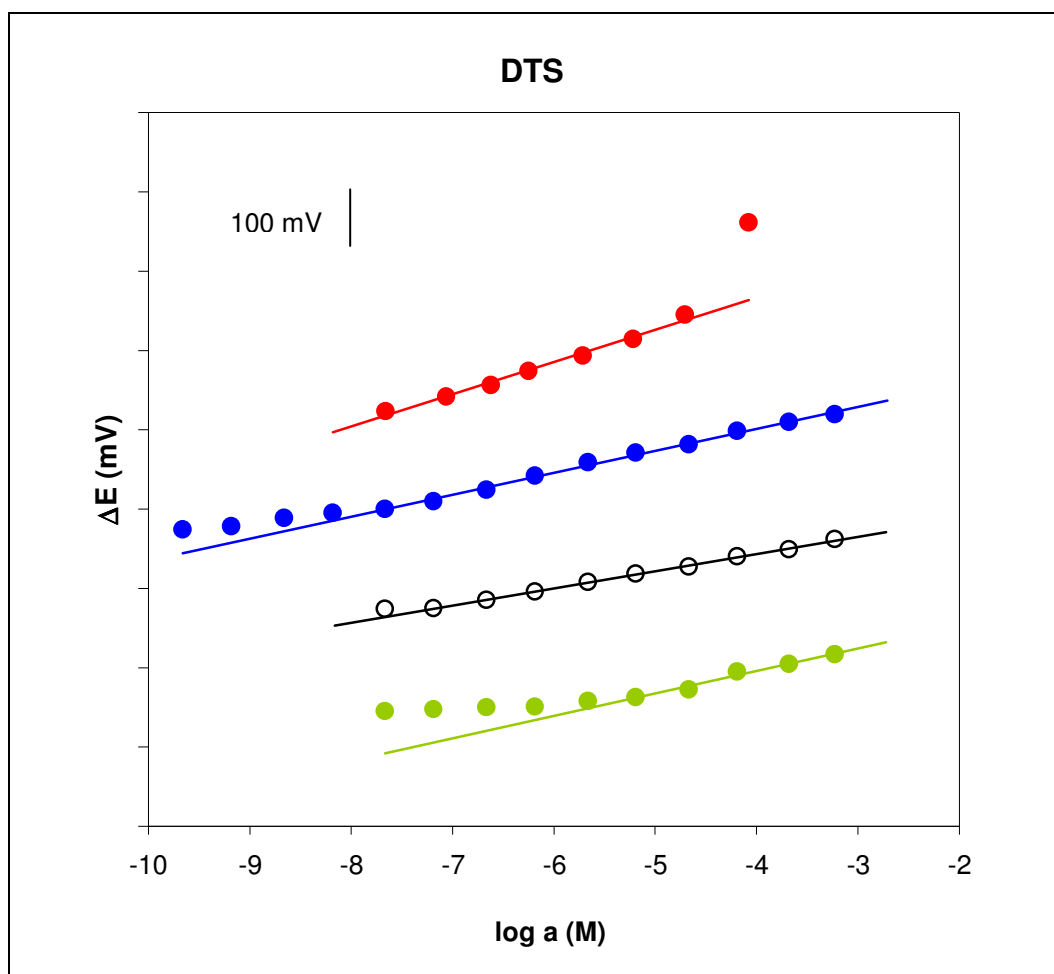
A la hora de estudiar la respuesta potenciométrica en función de la actividad de los iones cobre (II), mercurio (II) y plomo (II) se eligen valores de pH donde no existe variación del potencial, o este cambio sea lo menor posible. En cualquier caso, para evitar variaciones en el valor del pH durante la medida del potencial, todas las medidas se hacen utilizando un tampón de pH adecuado para el valor seleccionado. Así, para obtener un valor de pH 6.0 se utiliza como tampón una disolución de PIPES, y para los valores de pH 4.2 y 4.8 una disolución tampón de ácido acético / acetato sódico.

Tras activar los sensores potenciométricos introduciéndolos en disolución de electrolito, se caracteriza la respuesta potenciométrica de los sensores modificados con un 24.1 de DTS y TS y un 25.0 % de TETDS, en función de la actividad de los iones cobre (II), mercurio (II) y plomo (II). Para ello se prepara una disolución diluida del correspondiente ión metálico en electrolito soporte, sobre la que se realizan pequeñas adiciones de un patrón concentrado del mismo ión. Después de cada adición se anota la respuesta potenciométrica del sensor. Por último se calcula la actividad exacta del ión obtenida al final de cada adición y se representa el potencial medido frente la actividad del catión. Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 12, 13 y 14 para sensores que contienen DTS, TS y TETDS, respectivamente.

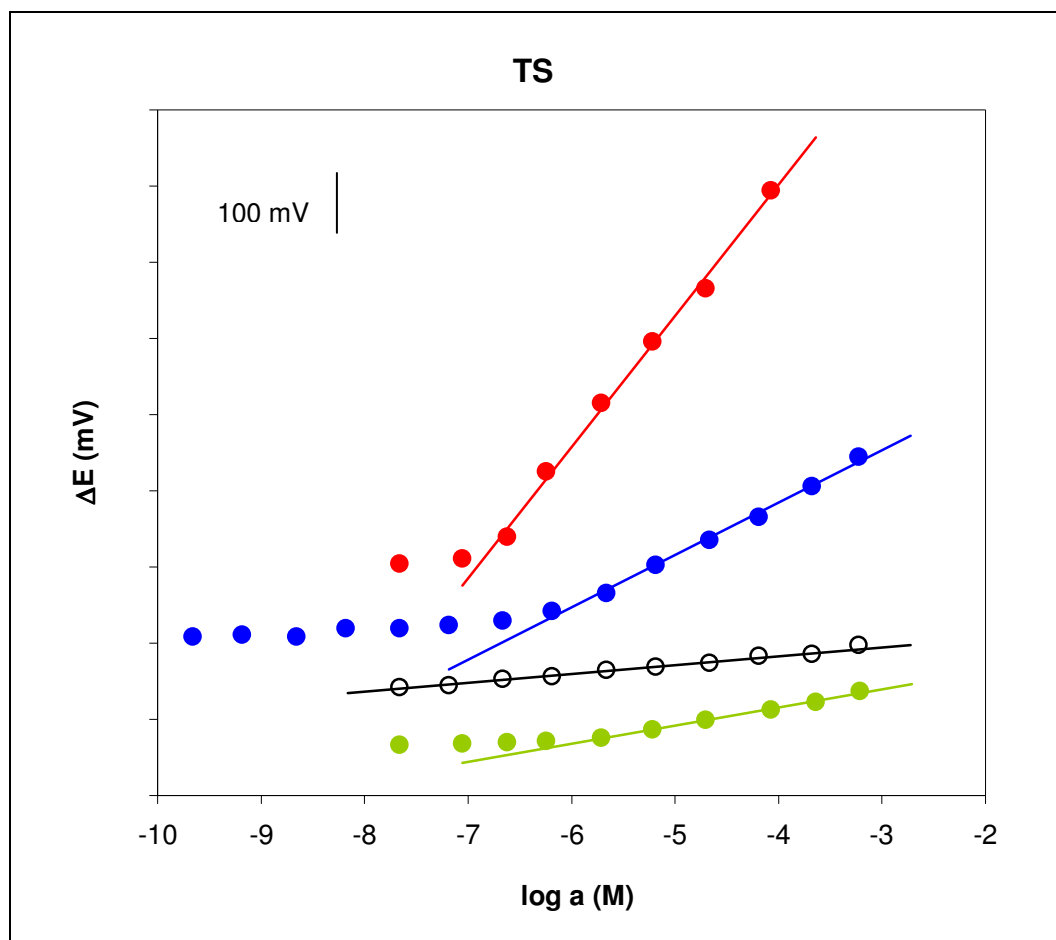
#### *Intervalo de respuesta lineal para el cobre*

El valor de pH elegido para realizar los estudios con el ión cobre (II) es 6.0, ya que para los tres sensores a este pH la respuesta potenciométrica permanece estable. Los tres sensores potenciométricos presentan un intervalo de respuesta lineal muy amplio, siendo similares los del sensor DTS ( $2.19 \times 10^{-8}$  M a  $6.17 \times 10^{-4}$  M) y TETDS ( $6.61 \times 10^{-8}$  M a  $6.17 \times 10^{-4}$  M) y algo inferior el del sensor TS ( $6.61 \times 10^{-7}$  M a  $6.17 \times 10^{-4}$  M). El intervalo de respuesta lineal obtenido con el sensor potenciométrico DTS es el mayor encontrado entre los tres ligandos ensayados en este estudio. Con respecto al valor de la pendiente del intervalo lineal, el sensor DTS presenta una respuesta muy próxima a la Nernstiana con un valor de 27.7 mV

/década de actividad del ión. En cambio los otros dos sensores muestran comportamientos super-Nernstianos obteniendo pendientes de 43.1 y 68.7 mV /década de actividad del ión cobre (II) para los sensores TETDS y TS, respectivamente. Existen numerosos electrodos potenciométricos que poseen comportamientos no-Nernstianos que se comercializan y utilizan con resultados satisfactorios [37, 99, 129, 146-149]. Además una respuesta super-Nernstiana mejora la sensibilidad de la medida para los iones de mayor carga.



**Figura 12.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % DTS en función del logaritmo de la actividad del  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0 (●),  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  a pH 4.8 (●) y  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0 (●) y a pH 4.2 (○). Electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0,1 M.



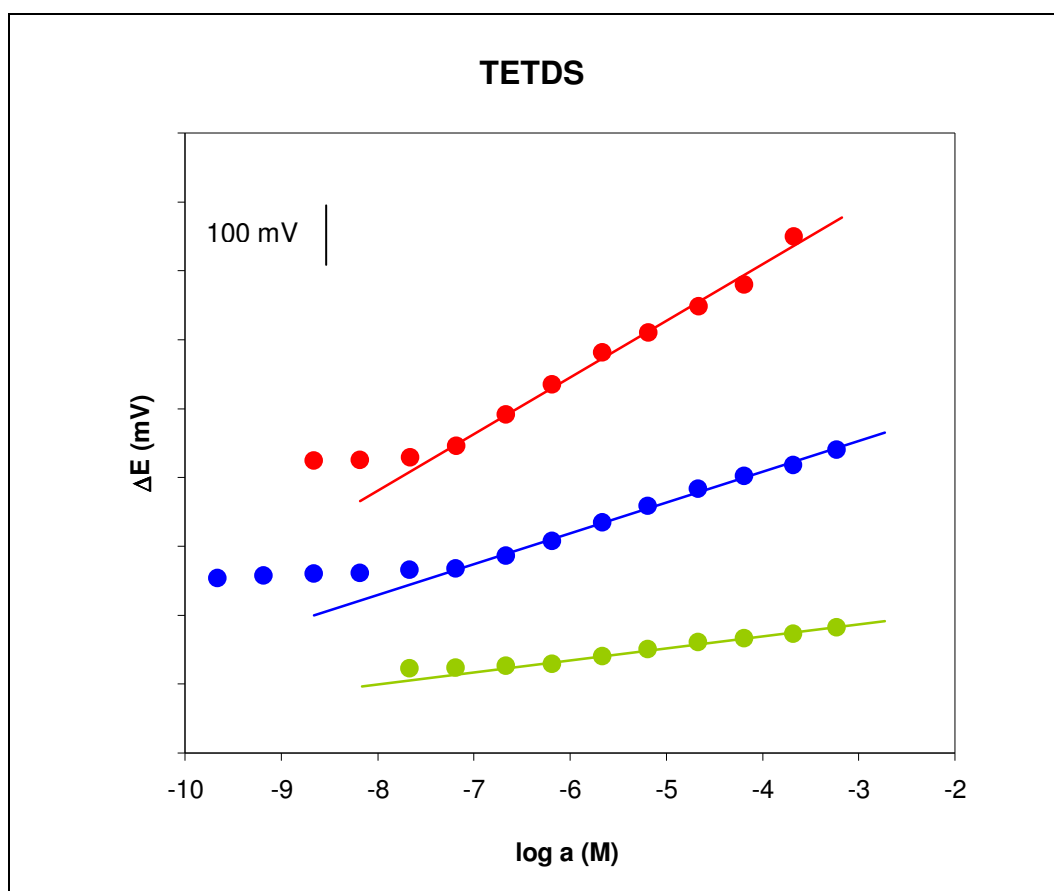
**Figura 13.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % TS en función del logaritmo de la actividad del  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0 (●),  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  a pH 4.8 (●) y  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0 (●) y a pH 4.2 (○). Electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0,1 M.

#### *Intervalo de respuesta lineal para el plomo*

Como ya se ha comentado el ión plomo (II) presenta una mayor variación en su respuesta potenciométrica en función del pH de la disolución para el sensor DTS. Por tanto, para este ión se realizan estudios a dos valores de pH diferentes, uno antes del salto en el valor del potencial del sensor potenciométrico DTS con el pH ( $\text{pH} = 4.2$ ) y otro después de dicho cambio ( $\text{pH} = 6.0$ ). El sensor modificado con el ligando DTS presenta un mayor intervalo de respuesta lineal a pH 4.2 ( $6.61 \times 10^{-8}$  M a  $6.17 \times 10^{-4}$  M) que a pH 6.0 ( $6.03 \times 10^{-6}$  M a  $6.17 \times 10^{-4}$  M). Sin embargo, la pendiente de la recta tiene un valor inferior y subNernstiano a pH 4.2 (21.8 mV /década actividad) que a pH 6.0 (27.6 mV / década actividad) donde se obtiene un



valor muy próximo al comportamiento Nernstiano. Con el sensor potenciométrico modificado con el ligando TS el comportamiento es similar, a pH 4.2 se obtiene un mayor intervalo de respuesta lineal ( $6.61 \times 10^{-8}$  M a  $2.14 \times 10^{-4}$  M) y menor pendiente (11.8 mV / década actividad) que a pH 6.0 (intervalo de respuesta  $1.95 \times 10^{-6}$  M a  $6.17 \times 10^{-4}$  M, pendiente 23.8 mV / década de actividad). El sensor potenciométrico modificado con el ligando TETDS es el que presenta el menor intervalo de respuesta ( $6.61 \times 10^{-7}$  M a  $6.17 \times 10^{-4}$  M) y peor sensibilidad (17.3 mV / década actividad). Además con el sensor TETDS la respuesta del electrodo es muy lenta y las medidas de los valores del potencial son muy inestables. Por este motivo, el resto de los estudios con el ión plomo (II) se realizarán sólo con los otros dos sensores. Las diferentes sensibilidades obtenidas para los sensores potenciométricos DTS y TS dependiendo del valor del pH al que se realiza el estudio, puede explicarse teniendo en cuenta el carácter ácido-base de los dos ligandos modificadores.



**Figura 14.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 25 % TETDS en función del logaritmo de la actividad del  $\text{Cu(NO}_3)_2$  a pH 6.0 (●),  $\text{Hg(NO}_3)_2$  a pH 6.0 (●) y  $\text{Pb(NO}_3)_2$  a pH 6.0 (●). Electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0,1 M.

### *Intervalo de respuesta lineal para el mercurio*

Para los iones mercurio, el mayor intervalo de respuesta lineal se observa para el sensor potenciométrico modificado con el ligando TETDS ( $6.61 \times 10^{-8}$  M a  $2.14 \times 10^{-4}$  M), aunque con el sensor DTS se consigue respuesta potenciométrica para actividades inferiores de los iones mercurio (II) ( $2.19 \times 10^{-8}$  M a  $2.00 \times 10^{-5}$  M). Como en el caso de los iones cobre (II), el sensor modificado con el ligando TS es el que presenta un menor intervalo de respuesta ( $2.40 \times 10^{-7}$  M a  $8.71 \times 10^{-5}$  M) pero mayor sensibilidad a los iones mercurio (II) (166.9 mV / década de actividad). Los sensores potenciométricos modificados con los ligandos DTS y TETDS presentan también un comportamiento super-Nernstiano, pero menos acusado que el del ligando TS, con pendientes por década de actividad de los iones mercurio (II) de 39.9 y 79.4 mV, respectivamente.

### **IV. 1.5 Tiempo de respuesta.**

Un factor importante de los sensores potenciométricos es su tiempo de respuesta. El tiempo de respuesta  $t_R$  es el período necesario para alcanzar un nuevo potencial de equilibrio, partiendo de un potencial inicial  $E_1$ , después de cualquier perturbación en la disolución, como por ejemplo, un cambio en el pH, en la concentración del ión del cual se estudia la respuesta del electrodo, o la adición de un complejante [4]. En la práctica el potencial tiende asintóticamente hacia  $E_{eq}$  y  $t_R$  puede definirse sólo operacionalmente. Un tiempo de respuesta corto permitirá medir variaciones rápidas en la concentración del analito a determinar.

Para calcular los tiempos de respuesta de los sensores potenciométricos se preparan disoluciones de cobre (II) y plomo (II) en concentración  $1.00 \times 10^{-4}$  M a pH 6.0 y 4.2 respectivamente, y de mercurio (II) en concentración  $1.00 \times 10^{-5}$  M a pH 4.8 usando  $\text{NaNO}_3$  0.1 M como electrolito en todos los casos. Se introducen los electrodos en la disolución y se realiza la medida del potencial con agitación constante, termostalizando la célula electroquímica de medida a  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ . Cuando el potencial se estabiliza se realiza la adición de un volumen suficiente de disolución patrón de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  ó  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  0.1000 M,

según corresponda, para aumentar la concentración de la disolución en una unidad logarítmica. El tiempo de respuesta se mide cuando se alcanza el 95 % del potencial de equilibrio después de la adición. En la Tabla 5 se encuentran los tiempos de respuesta obtenidos para cada uno de los sensores potenciométricos.

**Tabla 5.** Tiempo de respuesta ( $t_R$ ) en segundos de los sensores potenciométricos modificados con DTS, TS y TETDS.

Sensor	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ $10^{-4} \text{ M} \rightarrow 10^{-3} \text{ M}$	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ $10^{-5} \text{ M} \rightarrow 10^{-4} \text{ M}$	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ $10^{-4} \text{ M} \rightarrow 10^{-3} \text{ M}$
DTS	3 s	18 s	80 s
TS	13 s	6 s	40 s
TETDS	4 s	60 s	----

Como se observa en la Tabla 5, el **ión cobre (II)** es el que, por lo general presenta una respuesta potenciométrica más rápida que los otros dos cationes ensayados. El tiempo de respuesta más corto se obtiene con el sensor potenciométrico DTS, siendo muy similar al obtenido con el del sensor TETDS.

En el caso del **ión mercurio (II)** los tiempos de respuesta para los sensores DTS y TETDS aumentan considerablemente con respecto a los obtenidos para el cobre (II). En cambio, el tiempo de respuesta del sensor potenciométrico TS disminuye en el caso del mercurio alcanzando el 95 % de la señal en aproximadamente la mitad de tiempo que para el cobre (II).

Los **iones plomo (II)** son los que presentan los tiempos de respuesta más largos. Para los dos sensores potenciométricos estudiados, los tiempos de respuesta observados están cercanos al minuto.

Los distintos tiempos de respuesta encontrados para cada uno de los sensores potenciométricos pueden ser debidos a las distintas cinéticas de formación de los complejos

en la superficie de los sensores entre el ligando modificador y el correspondiente catión metálico.

### IV. 1.6. Límites de detección.

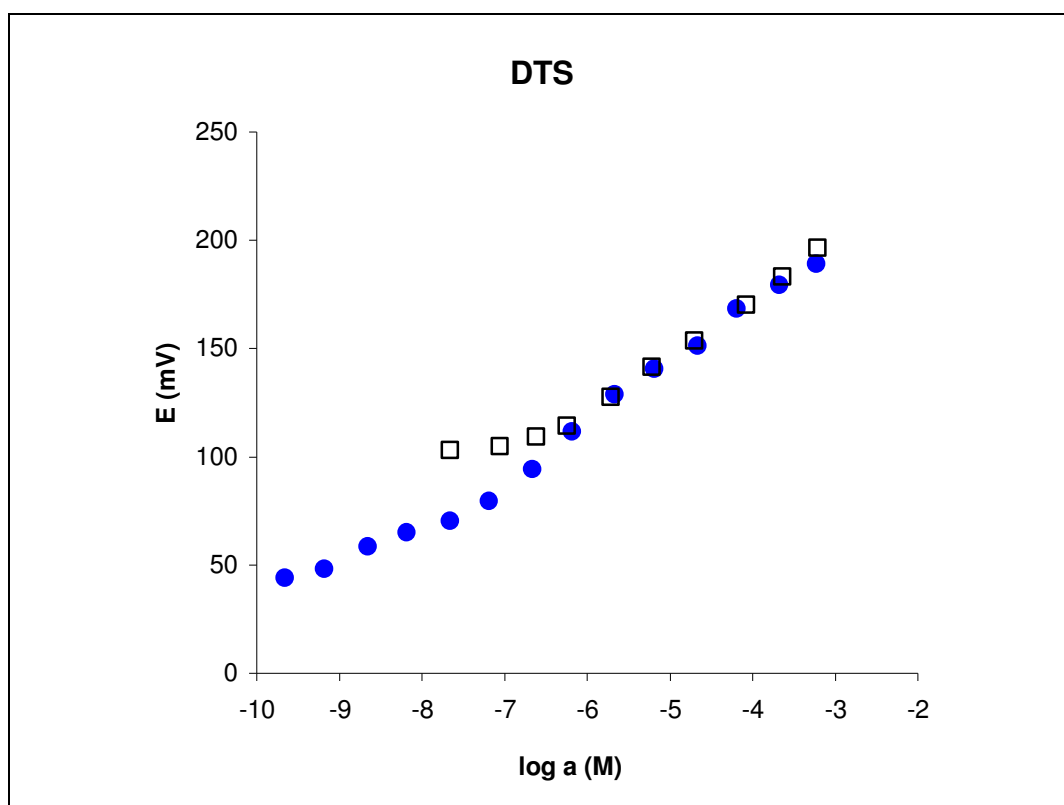
La IUPAC define el límite de detección de un sensor potenciométrico como la concentración del analito en el punto de intersección de la parte lineal extrapolada de la curva de calibrado con la parte de respuesta plana [2, 5]. Por tanto, siguiendo el método que recomienda la IUPAC, el límite de detección corresponde a la concentración en el punto de intersección de los dos segmentos extrapolados de la curva de calibrado.

En el cálculo de los límites de detección de sensores potenciométricos de pasta de carbón hay que tener en cuenta que si en la disolución de medida hay iones metálicos, la pasta de carbón puede adsorber cierta cantidad de estos cationes en la superficie del sensor. Entonces, cuando la concentración del analito que se está determinando con estos sensores varía desde un valor muy alto a uno muy bajo, el resultado que se obtiene al medir esta última disolución puede ser erróneo debido a la cantidad de analito residual que se desorbe de la superficie del sensor de pasta en dichas condiciones. Por lo tanto, para obtener resultados óptimos cuando se realizan análisis de bajas concentraciones de analito es necesario cambiar la pasta de la superficie del sensor potenciométrico antes de realizar cualquier experimento. Siguiendo el mismo razonamiento, para obtener intervalos de respuesta más amplios y límites de detección más bajos es necesario renovar la pasta de la superficie del sensor [44].

En nuestro caso, el proceso que tiene lugar cuando se introduce uno de los sensores potenciométricos de pasta modificada en una disolución que contiene iones cobre (II), mercurio (II) o plomo (II) es la formación del complejo en la superficie del sensor entre los iones metálicos y el modificador de la pasta de carbón. Además si la concentración del analito es elevada, la pasta de carbón puede adsorber cationes metálicos de la disolución de medida. Por tanto, si no cambiamos la superficie del sensor se obtendrán peores límites de detección. En la Figura 15 se muestra la respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 %

DTS para los iones cobre (II) con la superficie del sensor renovada y sin renovar. El límite de detección obtenido cuando se cambia la pasta de carbón de la superficie del sensor llega a ser aproximadamente un orden de magnitud menor que el obtenido cuando no se renueva esa superficie. Para actividades del ión cobre (II) superiores a  $1 \times 10^{-6}$  M, el comportamiento de la respuesta potenciométrica es el mismo en ambos casos.

Teniendo en cuenta este comportamiento, con el fin de obtener óptimos resultados y parámetros analíticos, la superficie de los sensores se cambiará antes de realizar cualquier tipo de experimento. En la Tabla 6 se muestran los límites de detección de los sensores potenciométricos con los distintos cationes metálicos, calculados renovando la superficie de los sensores. Los resultados están expresados como actividad del correspondiente ión metálico.



**Figura 15.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % DTS en función del logaritmo de la actividad del  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0 renovando la superficie del sensor (●) y sin renovar (□). Electrolito soporte:  $\text{NaNO}_3$  0.1 M.

**Tabla 6.** Límites de detección (expresados como actividad del ión metálico) de los sensores potenciométricos DTS, TS y TETDS calculados cambiando la superficie del sensor.

Sensor	Cobre (II)	Mercurio (II)		Plomo (II)	
	pH 6.0	pH 4.8	pH 6.0	pH 4.2	pH 6.0
DTS	$1.3 \times 10^{-8}$ M	$1.8 \times 10^{-8}$ M	---	$5.0 \times 10^{-8}$ M	$2.0 \times 10^{-6}$ M
TS	$5.0 \times 10^{-7}$ M	$1.7 \times 10^{-7}$ M	---	$4.0 \times 10^{-8}$ M	$1.6 \times 10^{-6}$ M
TETDS	$4.0 \times 10^{-8}$ M	---	$2.5 \times 10^{-8}$ M	---	---

#### *Límites de detección para el cobre*

Los sensores potenciométricos modificados con el ligando DTS son los que en términos generales presentan mejores límites de detección. Para el ión cobre (II) el límite de detección obtenido con este ligando es el menor de todos ( $1.3 \times 10^{-8}$  M), valor muy similar al obtenido con el sensor TETDS para el mismo metal. El peor límite de detección para estos iones se obtiene con el sensor modificado con el ligando TS, aunque el valor obtenido es similar a los que presentan otros sensores potenciométricos de cobre. De hecho los límites de detección obtenidos para los iones cobre (II) con los sensores modificados con los ligandos DTS y TETDS son inferiores, o en algunos casos similares, a los que muestran otros electrodos potenciométricos de cobre basados en ligandos similares [31, 32, 34] y sensores potenciométricos de cobre estudiados en los últimos años como se muestra en la Tabla 7.

#### *Límites de detección para el plomo*

En el caso de los iones plomo (II) los valores de los límites de detección varían dependiendo del pH al cual se realice el estudio. Cuando el pH de la disolución de trabajo tiene un valor de 6.0 los límites de detección obtenidos son aproximadamente cien veces mayores que los obtenidos cuando se realiza el mismo estudio a un pH de 4.2. A pesar de que los sensores potenciométricos modificados con los ligandos DTS y TS presenten peores límites de detección a pH 6.0, estos valores son similares o incluso mejores que los obtenidos en anteriores trabajos de sensores potenciométricos de plomo (II) como se muestra en la Tabla 8. El límite de detección calculado con el sensor DTS para un valor de pH de 4.2 es del

mismo orden de magnitud que los obtenidos para los iones cobre (II) y mercurio (II), en cambio para el sensor modificado con el ligando TS el límite de detección para los iones plomo (II) es mejor que el de los otros dos cationes metálicos. Comparando en la Tabla 8 los límites de detección obtenidos por estos dos sensores cuando se realizan los experimentos a un pH de 4.2 con los valores calculados en otros estudios de electrodos potenciométricos de plomo (II) [45, 48, 49, 55, 58-60] e incluso con el límite de detección obtenido por un electrodo selectivo de iones plomo de membrana de PVC que utiliza el ligando DTS como ionóforo [61], se observa que no se han encontrado en la bibliografía mejores límites de detección para estos iones que los presentados en este trabajo. Por tanto, cuando los experimentos se realizan a un pH de 4.2, el intervalo de concentraciones de trabajo es más amplio y se obtienen mejores límites de detección que trabajando a un pH de 6.0. Sin embargo, ya se ha comentado que los valores de la pendiente de las curvas de calibrado son más similares al comportamiento Nernstiano para este último valor de pH.

#### *Límites de detección para el mercurio*

Los resultados obtenidos con los tres sensores potenciométricos para los iones mercurio (II) son similares a los del cobre (II). El mejor límite de detección se obtiene nuevamente con el sensor DTS, el peor con el TS (un orden de magnitud inferior) y el sensor TETDS presenta un valor muy similar al del sensor modificado con el ligando DTS. En la Tabla 9 se comparan los límites de detección obtenidos para los sensores potenciométricos desarrollados en el presente trabajo con los datos publicados de otros estudios de sensores potenciométricos de mercurio. Se observa que los mejores resultados se obtienen para los sensores que emplean como modificador los ligandos que presentan el grupo disulfuro en su estructura: DTS y TETDS.

**Tabla 7.** Límites de detección (L.D.) de sensores potenciométricos de cobre (II).

L.D.	Membrana	Modificador	Año	Referencia
$3.2 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado macrociclo polietar	1988	[34]
$2.0 \times 10^{-8}$ M	líquida	derivado de disulfuros	1988	[32]
$7 \times 10^{-6}$ M	sólida	complejo cobre	1995	[42]
$1 \times 10^{-6}$ M	líquida	complejo cobre	1996	[25]
$6.3 \times 10^{-6}$ M	sólida	complejo cobre	1999	[43]
$>10^{-7}$ M	líquida	complejo cobre	2000	[21]
$6 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado ditiodianilina	2001	[31]
$3.0 \times 10^{-8}$ M	líquida	derivado base de Schiff	2001	[27]
$2.5 \times 10^{-7}$ M	líquida	complejo de cobre	2001	[22]
$1 \times 10^{-5}$ M	líquida	derivado calixareno	2001	[35]
$8.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado éter corona con S	2001	[33]
$7.0 \times 10^{-7}$ M	sólida	derivado pirimidínico	2002	[44]
$1.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado ditioacetil	2002	[30]
$7 \times 10^{-6}$ M	líquida	complejo cobre	2003	[23]
$3.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado base de Schiff	2003	[29]
$2.0 \times 10^{-5}$ M	líquida	derivado macrociclo polietar	2003	[9]
$5.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	complejo cobre	2003	[26]
$2.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado polipirazol	2003	[37]
$3.0 \times 10^{-6}$ M	sólida	derivado tiosemicarbazona	2004	[11]
$4.7 \times 10^{-6}$ M	líquida	complejo cobre	2004	[20]
$7.9 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado base de Schiff	2005	[10]
$7.8 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado macrociclo peptido	2005	[36]
$3.1 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado base de Schiff	2005	[28]
<b><math>5.0 \times 10^{-7}</math> M</b>	<b>sólida</b>	<b>TS</b>	<b>---</b>	<b>[*]</b>
<b><math>4.0 \times 10^{-8}</math> M</b>	<b>sólida</b>	<b>TETDS</b>	<b>---</b>	<b>[*]</b>
<b><math>1.3 \times 10^{-8}</math> M</b>	<b>sólida</b>	<b>DTS</b>	<b>---</b>	<b>[*]</b>

\* Datos obtenidos en esta memoria.



**Tabla 8.** Límites de detección de sensores potenciométricos de plomo (II).

L.D.	Membrana	Modificador	Año	Referencia
$1.6 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado ditiocarbamato	1991	[58]
$1 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado éter corona	1992	[53]
$2 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado éter corona	1997	[52]
$1 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado calixareno	1999	[46]
$1 \times 10^{-5}$ M	líquida	derivado de disulfuros	1999	[64]
$2.8 \times 10^{-5}$ M	líquida	derivado éter corona	2000	[50]
$3 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado fosfatos de bencilo	2000	[57]
$6.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	ácido decanoico	2001	[14]
$1 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado éter corona	2001	[51]
$1 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado pirrolidina con S	2001	[59]
$1.1 \times 10^{-5}$ M	líquida	derivado calixareno	2002	[47]
$4.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	piroxicam	2002	[56]
$8 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado calixareno	2002	[45]
$7 \times 10^{-8}$ M	líquida	derivado éter corona	2002	[49]
$2 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado base de Schiff	2003	[54]
$2.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado piridinacarboxiamida	2003	[62]
$2.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado de disulfuros	2003	[61]
$8.0 \times 10^{-8}$ M	líquida	derivado antraquinona	2003	[60]
$3.5 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado porfirina	2004	[63]
$6 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado calixareno	2004	[48]
$3.0 \times 10^{-6}$ M	sólida	derivado base de Schiff	2005	[65]
$9.1 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado base de Schiff	2005	[55]
$1.6 \times 10^{-6}$ M	sólida	TS a pH 6.0	---	[*]
$2.0 \times 10^{-6}$ M	sólida	DTS a pH 6.0	---	[*]
$4.0 \times 10^{-8}$ M	sólida	TS a pH 4.2	---	[*]
$5.0 \times 10^{-8}$ M	sólida	DTS a pH 4.2	---	[*]

\* Datos obtenidos en esta memoria.

**Tabla 9.** Límites de detección de sensores potenciométricos de mercurio (II).

L.D.	Membrana	Modificador	Año	Referencia
$1.3 \times 10^{-6}$ M	líquida	éter corona con S	1997	[71]
$6.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	éter corona con S y N	1999	[70]
$1.4 \times 10^{-5}$ M	líquida	derivado pirimidínico	2000	[75]
$1 \times 10^{-6}$ M	líquida	ligando 1,3, difenil tiourea	2000	[79]
$6 \times 10^{-7}$ M	líquida	ligando cíclico con S	2000	[80]
$7.0 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado fenilcarbamato	2000	[78]
$5.0 \times 10^{-8}$ M	líquida	derivado ácido acrílico con S	2003	[77]
$4 \times 10^{-6}$ M	sólida	complejo de mercurio	2003	[67]
$1.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado tiosemicarbazona	2003	[76]
$2.0 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado base de Schiff	2003	[73]
$4.5 \times 10^{-7}$ M	líquida	derivado calixareno con N y S	2003	[69]
$1.4 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado piridina con S	2004	[74]
$2.2 \times 10^{-5}$ M	líquida	derivado calixareno	2004	[68]
$1.0 \times 10^{-6}$ M	líquida	derivado base de Schiff con S	2005	[72]
$8.9 \times 10^{-6}$ M	líquida	complejo Hg con diamina	2005	[66]
$1.7 \times 10^{-7}$ M	sólida	TS	---	[*]
$2.5 \times 10^{-8}$ M	sólida	TETDS	---	[*]
$1.8 \times 10^{-8}$ M	sólida	DTS	---	[*]

\* Datos obtenidos en esta memoria.

A la vista de los resultados obtenidos por los sensores potenciométricos modificados con los ligandos DTS, TS y TETDS podemos afirmar que los límites de detección obtenidos para los iones plomo (II), mercurio (II) y cobre (II), cambiando la superficie del sensor antes del experimento, son muy bajos, pudiéndose determinar concentraciones de estos cationes metálicos similares o inferiores a las que pueden analizarse con otros sensores potenciométricos de estos metales desarrollados en los últimos años.

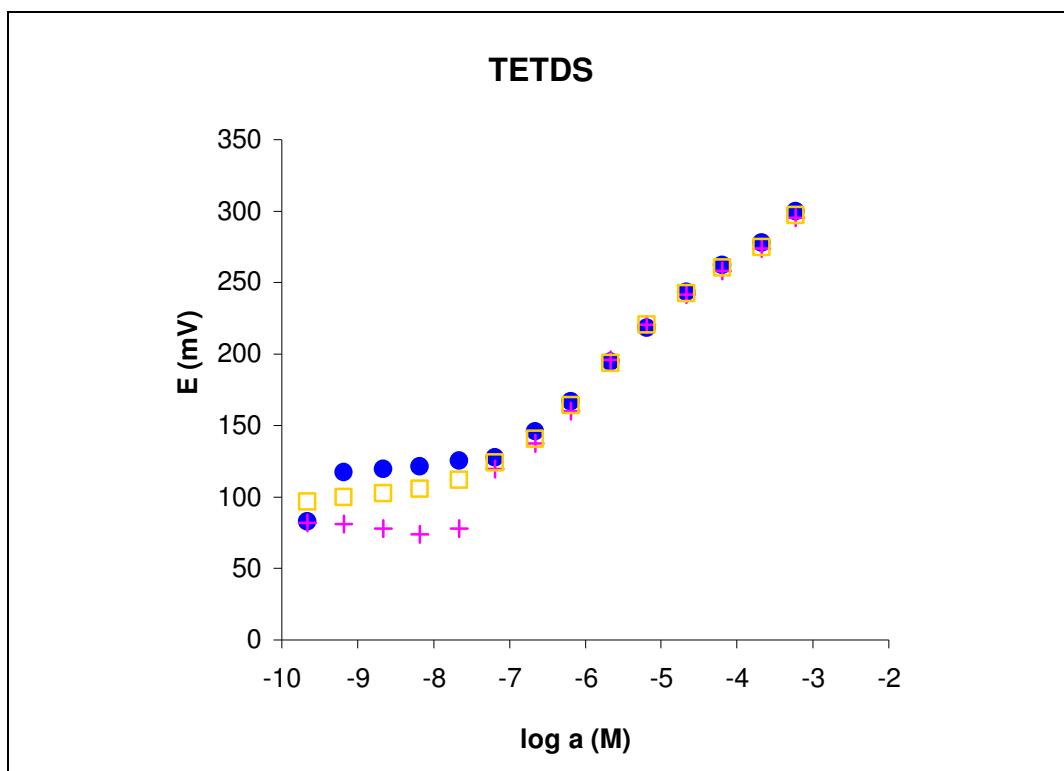
**IV. 1.7. Estabilidad y reproducibilidad de la respuesta potenciométrica de los sensores.**

Como se ha visto en el apartado anterior, para obtener mejores resultados analíticos es necesario renovar la superficie de los sensores potenciométricos al comienzo de cualquier experimento. En principio, el tener que llevar a cabo este procedimiento parece que llevará asociado una pérdida en la estabilidad en las medidas potenciométricas. Con el fin de evaluar la reproducibilidad del valor del potencial con los distintos sensores, se repite en un mismo día y una semana después el mismo experimento. En la Figura 16 se muestran los resultados obtenidos con el sensor modificado con el ligando TETDS para los iones cobre (II).

A pesar de cambiar la pasta modificada de la superficie de los sensores antes de comenzar a realizar cualquier experimento las respuestas potenciométricas obtenidas son por lo general, reproducibles y estables. Además no se observan variaciones significativas cuando la repetición del experimento se realiza el mismo día o una semana más tarde, en ambos casos se obtienen el mismo grado de imprecisión.

*Estabilidad y reproducibilidad de la respuesta a cobre*

En el caso de los iones cobre (II), los tres sensores potenciométricos muestran gran estabilidad y reproducibilidad. En el intervalo de respuesta potenciométrica de los sensores la variación del potencial es de  $\pm 1$  mV, para los sensores DTS y TETDS, y  $\pm 2$  mV, para el sensor TS, entre experimentos, se hayan realizado en el mismo día o una semana después. Fuera de este intervalo de concentraciones las variaciones del valor del potencial son mayores. Estas variaciones en el potencial son similares a las obtenidas en nuestro laboratorio con electrodos selectivos de iones comerciales.



**Figura 16.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 25 % TETDS en función del logaritmo de la actividad del  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0 en  $\text{NaNO}_3$  0.1 M. Experimentos realizados en el mismo día (●) primer calibrado) (□ segundo calibrado) y una semana después (+)

#### *Estabilidad y reproducibilidad de la respuesta a plomo*

La estabilidad y reproducibilidad de la respuesta potenciométrica para los iones plomo es muy similar para los dos sensores estudiados. Se obtienen variaciones de  $\pm 2$  mV con el sensor modificado con el ligando DTS y  $\pm 3$  mV con el sensor TS, cuando se repite el mismo experimento en el mismo o distinto día.

#### *Estabilidad y reproducibilidad de la respuesta a mercurio*

Para los iones mercurio (II) el sensor modificado con el ligando DTS es el que presenta una menor variación en el valor del potencial ( $\pm 2$  mV), similar a la del sensor TETDS ( $\pm 3$  mV). La mayor inestabilidad en la medida del potencial para los iones mercurio

(II) la muestra el sensor potenciométrico modificado con el ligando TS, con variaciones de  $\pm 5$  mV. Realmente esta variación del potencial no es un factor limitante en posteriores aplicaciones del sensor si se tiene en cuenta que es el que presenta la mayor pendiente en la recta de calibrado (166.9 mV). Por lo tanto, aunque se obtengan diferentes valores del potencial de una misma disolución, se obtendrá la misma precisión en el cálculo de la concentración del analito.

#### IV. 1.8. Selectividad de los sensores.

Uno de los parámetros más importantes a considerar en un sensor potenciométrico es su selectividad. En este apartado se reflejan los resultados de los estudios encaminados a la caracterización de la selectividad de los distintos sensores. Los sensores potenciométricos nunca son completamente específicos a un único ión. Esta falta de selectividad en su respuesta puede ser a menudo un problema en las aplicaciones del correspondiente sensor.

El efecto que sobre la respuesta de un sensor potenciométrico produce la presencia de otros iones en disolución es de gran importancia. Normalmente éste se evalúa calculando los coeficientes de selectividad del electrodo para los iones interferentes. La constante de selectividad indica el efecto de un ión extraño  $B$  que interfiere con la respuesta de un sensor a su ión primario  $A$  [3-5]. En general, la constante de selectividad ( $K_{A,B}$ ) se define según la ecuación de Nicolsky-Eisenman, como:

$$E = E^{\circ} + S \log \left[ a_A + K_{A,B} (a_B)^{z_A/z_B} \right] \quad (7)$$

Donde  $S$  es la pendiente (mV /década de actividad) de la recta de calibrado del sensor potenciométrico,  $a_A$  y  $a_B$  las actividades del ión principal y el ión interferente y  $z_A$  y  $z_B$  son las cargas de los iones  $A$  y  $B$ , respectivamente. Para valores de  $K_{A,B} < 1$ , el electrodo, al menos con respecto a la selectividad, favorece a la especie  $A$ , es decir, es más sensible a la especie  $A$  que a la especie  $B$ . Por otra parte, valores de  $K_{A,B} > 1$ , quieren decir que el electrodo no es

adecuado para medir la especie  $A$  en presencia de  $B$  cuando éste último está en concentraciones similares a la del ión primario, ya que es más sensible al ión interferente [3].

Aunque el término  $K_{A,B}$  sea llamado constante de selectividad su valor depende fuertemente de las condiciones de operación y cálculo, por lo que sólo es útil como una guía aproximada para la predicción del comportamiento general de un sensor potenciométrico en un medio dado, pero no para hacer correcciones precisas de las medidas de actividad del analito. Los valores del coeficiente de selectividad dependen de la concentración de los dos iones, y de la composición y temperatura de la disolución al igual que del método de cálculo concreto utilizado para su obtención. De este modo, la gravedad de la interferencia dependerá del nivel de actividad relativa del ión primario y el interferente, y de la constante de selectividad [2-5].

Los métodos de cálculo empleados para la evaluación de los coeficientes de selectividad de los sensores desarrollados en este estudio son el método de las disoluciones separadas (SSM), el método de las disoluciones conjuntas (MSM) y el método de la igualación de potenciales (MPM).

### IV. 1.8.1 Método de las disoluciones separadas (*Separated Solution Method SSM*).

Para calcular los coeficientes de selectividad se mide el potencial que el sensor presenta en dos disoluciones, una que contiene el ión al cual el electrodo es sensible con una actividad  $a_A$  y otra que contiene el ión interferente del cual se esta evaluando su coeficiente de selectividad (y sólo este ión) con una actividad  $a_B$ . En cada una de las disoluciones, los valores de las actividades de los iones  $A$  y  $B$  deben ser iguales ( $a_A = a_B$ ). Si los valores del potencial obtenidos en la medida de las dos disoluciones son  $E_1$  y  $E_2$ , respectivamente, el valor del coeficiente de selectividad del electrodo se calcula con la siguiente ecuación, deducida de la ecuación (7) [2, 150]:

$$K_{A,B} = \exp\left\{ [(E_2 - E_1)/S] + \left[ (1 - \langle z_A/z_B \rangle) \log a_A \right] \right\} \quad (8)$$

#### IV. 1.8.2. Método de las disoluciones conjuntas (*Mixed Solution Method MSM*).

Los coeficientes de selectividad de los electrodos selectivos hacia otras especies catiónicas pueden calcularse empleando el método de las disoluciones conjuntas [151]. En este método los coeficientes se obtienen a partir de la medida del potencial de distintas disoluciones que contienen todas ellas la misma cantidad de analito ( $a_A$ ) y distintas cantidades del ión interferente ( $a_B$ ). El coeficiente de selectividad está relacionado con los potenciales medidos mediante la ecuación:

$$K_{A,B} a_B^{z_A/z_B} = a_A \{ \exp[(E_2 - E_1)/S] \} - a_A \quad (9)$$

donde,  $E_1$  y  $E_2$  son los potenciales medidos en la disolución que sólo contiene el ión al cual el electrodo es selectivo, y para las disoluciones que contienen el ión interferente y el analito (con la misma actividad que en la disolución anterior), respectivamente. El valor del coeficiente de selectividad se obtiene de la pendiente de la recta obtenida de la representación gráfica de  $a_A \{ \exp[(E_2 - E_1)/S] \}$  versus  $a_B^{z_A/z_B}$ .

#### IV. 1.8.3. Método de la igualación de potenciales (*Matched Potential Method MPM*).

El método de la igualación de potenciales fue desarrollado en 1984 por Gadzekpo y col. [152] y es el único de los empleados donde la forma de cálculo de los coeficientes de selectividad es totalmente independiente de la ecuación de Nicolsky-Eisenman. El método no tiene en cuenta las cargas de los iones ensayados, y puede emplearse tanto si la respuesta potenciométrica que presentan el ión principal y el interferente es Nernstiana como si no lo es.

Para determinar el valor de los coeficientes de selectividad se mide la variación de la respuesta potenciométrica cuando se cambia la actividad del ión principal desde un valor inicial ( $a_A$ ) a otro final ( $a_A'$ ) en la disolución de medida. Se prepara una nueva disolución que contiene el ión principal con la misma actividad inicial ( $a_A$ ). Sobre esta nueva disolución se realizan distintas adiciones del ión interferente ( $a_B$ ) hasta conseguir que la variación en la

medida del potencial coincida con la variación potenciométrica obtenida cuando se incrementaba la actividad del ión  $A$  en la disolución anterior. El valor del coeficiente de selectividad se obtiene de la siguiente ecuación:

$$K_{A,B} = (a_A' - a_A) / a_B \quad (10)$$

### IV. 1.8.4. Comparación de los métodos de cálculo de los coeficientes de selectividad.

El SSM se ha utilizado en multitud de trabajos para la evaluación de las constantes de selectividad por su sencillez y rapidez en el cálculo [26, 28, 45, 46, 57, 62, 63, 67, 69, 72, 78, 79]. A pesar de su gran utilización, el SSM no es muy deseable porque no representa realmente las condiciones reales bajo las cuales se utilizará el sensor potenciométrico. Con el fin de simular estas condiciones surge el MSM. Ahora el cálculo de los coeficientes de selectividad se realiza utilizando medidas de potencial tomadas de disoluciones que contienen a la vez el analito y en ión interferente [14, 22, 25, 27, 30, 33, 48, 50, 53, 54, 64, 70, 71, 73, 77, 153].

Sin embargo estos dos métodos de cálculo de coeficientes de selectividad presentan una serie de limitaciones al estar basados en la ecuación de Nicolsky-Eisenman. El uso de esta ecuación para el cálculo de los coeficientes de selectividad se desarrolló para un determinado electrodo, el electrodo de vidrio con los iones metálicos alcalinos [154], pero no está demostrado que pueda utilizarse de forma universal para todos los tipos de sensores potenciométricos que se han ido desarrollando a lo largo del tiempo.

La IUPAC recomienda que no se empleen el SSM y el MSM en el cálculo de coeficientes de selectividad de iones interferentes que tengan distinta carga iónica que el ión primario y cuando la variación de la respuesta potenciométrica con la actividad del ión interferente no sea la misma que la obtenida para el ión principal. En este último caso, el valor del coeficiente de selectividad obtenido depende de la actividad del ión interferente y del ión principal en las disoluciones empleadas para realizar ese cálculo [150]. Por tanto, en los casos donde puedan darse estas limitaciones se recomienda el empleo de un método de cálculo de



coeficientes de selectividad que sea independiente de la ecuación de Nicolsky-Eisenman, como el MPM.

El MPM no tiene en cuenta las cargas del ión principal y de los interferentes ni tampoco si la respuesta potenciométrica del sensor para el ión principal y para los interferentes es o no Nernstiana [9, 10, 20, 23, 24, 27-30, 35, 37, 47, 49, 55, 56, 60, 66, 74, 79, 80]. El inconveniente que presentan las constantes de selectividad calculadas con este método es que al ser independiente de la ecuación de Nicolsky-Eisenman es difícil relacionar los valores obtenidos con alguna propiedad física particular. En otras palabras estas constantes solamente tienen significado práctico, no pueden relacionarse con significados teóricos [150].

Por tanto, si para el cálculo de las constantes de selectividad se emplea un método basado en la ecuación de Nicolsky-Eisenman los valores obtenidos dependen del método elegido para realizar el cálculo y de las condiciones en las que se evalué su valor (por ejemplo, actividad de las dos especies iónicas en la disolución) lo que dificulta la comparación de los resultados con los obtenidos en otros estudios. Si por el contrario se utiliza el MPM los valores calculados no dependen de la composición de la disolución, pero no tiene ningún significado teórico, solamente práctico. Quizá estas sean algunas de las razones por las que en gran parte de estudios publicados en los últimos años sobre sensores potenciométricos el cálculo de los coeficientes de selectividad se realiza empleando dos métodos: el MPM y otro basado en la ecuación de Nicolsky-Eisenman.

Para el cálculo de los coeficientes de selectividad de los sensores potenciométricos de pasta de carbón modificada con los ligandos DTS, TS y TETDS se utilizaron disoluciones de cobre (II) y plomo (II) de actividad  $2.14 \times 10^{-4}$  M y mercurio (II) de actividad  $2.14 \times 10^{-6}$  M y  $2.14 \times 10^{-5}$  M. Las medidas del potencial se realizaron a  $25 \pm 1^\circ$  C con agitación constante.

### *Selectividad de la respuesta a cobre*

El coeficiente de selectividad de los tres sensores potenciométricos para los iones cobre (II) se calcula empleando en todos los casos el MPM y el MSM. En la Tabla 10 se muestran los resultados obtenidos para estos sensores. A pesar de que no todos los sensores presentan un comportamiento Nernstiano, se emplea el MSM por ser un método de cálculo ampliamente utilizado incluso en trabajos de electrodos selectivos de iones que presentan comportamientos no-Nernstianos [22]. En algunos casos se observan grandes diferencias entre los valores obtenidos por el MPM y el MSM para un mismo sensor y catión interferente debido a las limitaciones que sufre el MSM. Como ejemplo se cita el caso de los iones hierro (III), donde los valores de las constantes de selectividad aumentan en más de un orden de magnitud cuando el cálculo se realiza con el MPM, debido a que no se tiene en cuenta la diferencia entre las cargas del interferente y el cobre (II). Pero como ya se ha indicado, el cálculo de los coeficientes de selectividad con MPM refleja mejor el nivel de interferencia de estos iones.

Entre los tres sensores potenciométricos el que tiene mejor selectividad para los iones cobre (II) es el modificado con el ligando TETDS. Los iones de metales alcalinos y alcalino-térreos no modifican el valor del potencial del sensor TETDS cuando se encuentran en la disolución de medida. Además, este sensor potenciométrico está caracterizado por una alta selectividad hacia los iones cobre (II) frente a los cationes de metales de transición. Los iones de metales alcalinos tampoco interfieren en la respuesta potenciométrica de los sensores DTS y TS. En cambio, estos sensores potenciométricos presentan peor selectividad que el modificado con el ligando TETDS hacia los iones cobre (II) con respecto a los cationes de metales alcalino térreos y cationes de metales de transición. Esta baja selectividad es más acusada en el caso del sensor modificado con el ligando DTS. Así, mientras que para el sensor TS los iones plomo (II) y cadmio (II) muestran ligera interferencia en su respuesta potenciométrica hacia los iones cobre (II), para el sensor modificado con el ligando DTS esta interferencia es más acusada.

**Tabla 10.** Coeficientes de selectividad,  $\log K_{Cu,M}$ , calculados por dos métodos para los sensores potenciométricos de cobre (II) y distintos cationes interferentes. Condiciones de trabajo: superficie del sensor renovada, pH 6.0 y actividad de los iones cobre (II)  $2.14 \times 10^{-4}$  M.

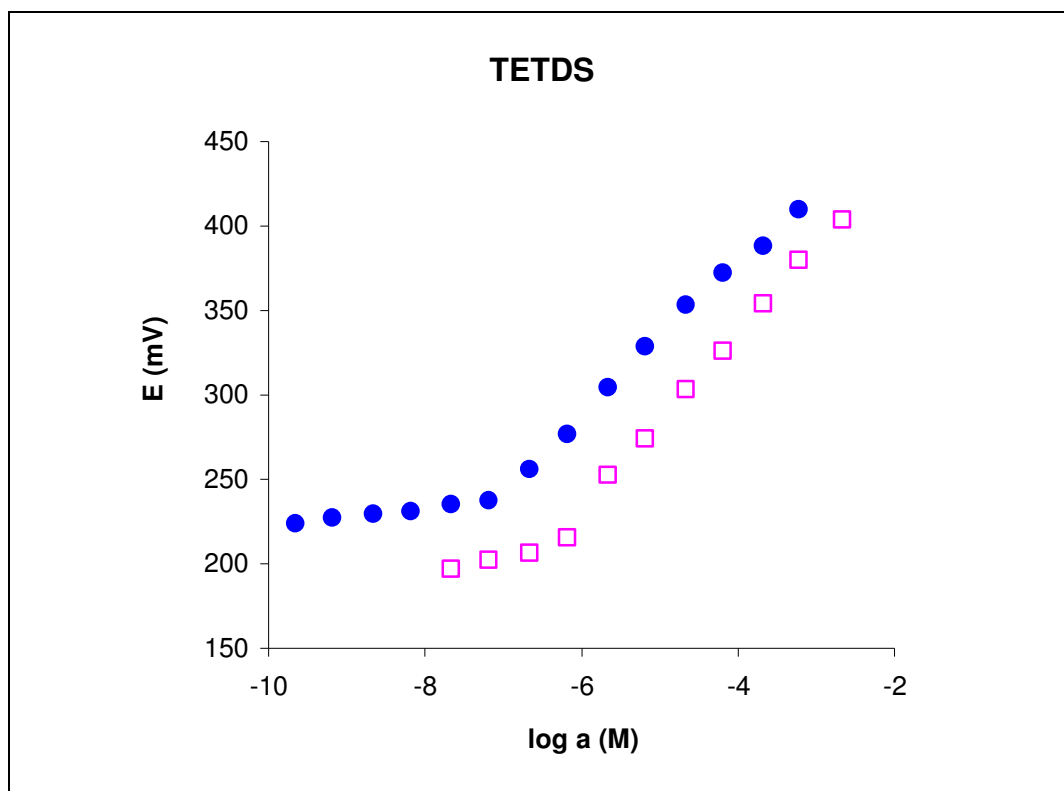
COBRE						
Interferente	Sensor DTS		Sensor TS		Sensor TETDS	
	MSM	MPM	MSM	MPM	MSM	MPM
Na <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0
K <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0
Ca <sup>2+</sup>	-0.29	-3.67	-0.38	-0.63	< -4.0	< -4.0
Mg <sup>2+</sup>	0.18	-0.40	-0.34	-0.54	-1.15	< -4.0
Zn <sup>2+</sup>	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0
Ba <sup>2+</sup>	--	--	--	--	< -4.0	< -4.0
Ni <sup>2+</sup>	--	--	--	--	-1.64	< -4.0
Co <sup>2+</sup>	--	--	--	--	< -4.0	< -4.0
Mn <sup>2+</sup>	--	--	--	--	< -4.0	< -4.0
Pb <sup>2+</sup>	0.61	0.69	-1.00	< -4.0	-3.35	< -4.0
Cd <sup>2+</sup>	0.03	0.05	-0.22	-0.81	-3.60	< -4.0
Hg <sup>2+</sup>	> 3.0	2.17	> 3.0	2.18	1.46	0.91
Hg <sup>2+ a</sup>	--	--	--	--	-1.21	-1.26
Cr <sup>3+</sup>	--	--	--	--	-3.67	< -4.0
Al <sup>3+</sup>	-0.32	-0.41	< -4.0	< -4.0	-2.08	< -4.0
Fe <sup>3+</sup>	-1.16	1.65	-1.52	1.49	1.33	2.32
Fe <sup>3+ a</sup>	--	--	--	--	-2.10	< -4.0

<sup>a</sup> Utilizando como electrolito soporte KCl 1 M.

Los únicos iones que interfieren en la respuesta potenciométrica del sensor TETDS hacia los iones cobre (II) son el mercurio (II) y el hierro (III). Los sensores potenciométricos DTS y TS e incluso electrodos selectivos de cobre comerciales, también presentan interferencia hacia estos mismos cationes. La interferencia de los iones mercurio (II) es debida a la gran afinidad que presenta este metal pesado hacia los átomos de azufre. Si se observan los valores de los coeficientes de selectividad de los tres sensores potenciométricos

de cobre hacia los iones mercurio mostrados en la Tabla 10, se observa como las constantes de selectividad para los sensores DTS y TS son muy similares entre si, y mayores que el valor obtenido por el sensor modificado con el ligando TETDS. La mayor selectividad mostrada por este último sensor hacia los iones cobre (II) se debe a la presencia en la estructura del ligando TETDS de átomos de nitrógeno, que responden más fuertemente hacia los cationes cobre (II) que hacia muchos otros iones de metales de transición [11].

Con el fin de disminuir la interferencia en la respuesta potenciométrica de los sensores hacia los iones cobre (II) de los cationes mercurio (II) y hierro (III) se realiza la medida del potencial en presencia de KCl 1 M como electrolito soporte en vez de NaNO<sub>3</sub> 0.1 M, adicionando pequeñas cantidades de NaOH diluida para mantener el pH de la disolución a un valor de 6.0. Como se observa en la Tabla 10 las interferencias de ambos cationes decrecen considerablemente, pero se observan pequeños cambios en la respuesta potenciométrica del sensor debido a la formación de los complejos clorados de los metales. En la Figura 17 puede apreciarse como la pendiente de la recta de calibrado del sensor potenciométrico TETDS aumenta ligeramente hasta un valor de 51.2 mV/década de actividad cuando se utiliza KCl 1 M como electrolito soporte frente al valor 43.1 mV/década de actividad, obtenido con NaNO<sub>3</sub> 0.1 M. Por otro lado, el límite de detección del sensor potenciométrico TETDS aumenta en un orden de magnitud, con lo que el valor obtenido en presencia de KCl 1 M es de  $4.0 \times 10^{-7}$  M. Frente a estas pequeñas variaciones en la respuesta potenciométrica, el mayor cambio que se observa es un pequeño incremento en la imprecisión de la medida de los valores de potencial del sensor, con variaciones de  $\pm 3$  mV.



**Figura 17.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 25 % TETDS en función del logaritmo de la actividad del  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0 utilizando como electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0.1 M (●) y  $\text{KCl}$  1 M (□).

#### *Selectividad de la respuesta a plomo*

Los coeficientes de selectividad para los sensores potenciométricos de plomo (II) también se calcularon utilizando el MPM y el MSM. Los resultados obtenidos se reflejan en la Tabla 11. Al igual que ocurre con los iones cobre (II), por lo general, los valores de los coeficientes de selectividad obtenidos por cada uno de los métodos son muy similares entre sí. En algunos casos, como por ejemplo para el aluminio (III) y el zinc (II), se observan grandes diferencias entre estos valores debido a las limitaciones anteriormente mencionadas del MSM.

De los dos sensores potenciométricos ensayados para la determinación de los iones plomo (II), el sensor modificado con el ligando DTS presenta mejor selectividad que el TS. Para ambos sensores los cationes alcalinos y el ión calcio (II) no interfieren en su respuesta

potenciométrica. El ión magnesio (II) y algunos metales de transición muestran una ligerísima interferencia en los sensores que es más elevada para el sensor potenciométrico modificado con el ligando TS.

Como es de esperar, los dos sensores presentan una gran variación en sus respuestas potenciométricas hacia los iones plomo (II) cuando se encuentran presentes en la disolución los iones hierro (III), cobre (II) y mercurio (II). Estas mismas interferencias las presentan electrodos selectivos de iones plomo (II) desarrollados en los últimos años [46, 47, 52, 59] y electrodos selectivos de plomo (II) comerciales. De hecho en estos últimos, para el correcto funcionamiento del electrodo, se recomienda que estén ausentes en la disolución de medida los iones cobre (II) y mercurio (II) y que las concentraciones de los iones cadmio (II) y hierro (III) no superen a la del ión principal.

Se puede corregir la interferencia del hierro (III) en la respuesta potenciométrica de los sensores DTS y TS para los iones plomo (II), manteniendo el pH de la disolución de medida en un valor de 6.0. En estas condiciones el hierro (III) precipita formando el correspondiente hidróxido, dejando en disolución una concentración de hierro (III) libre muy baja. Los iones cobre (II) también interfieren, aunque en menor medida que el mercurio (II), cuando se utilizan estos sensores en las determinaciones de los iones plomo (II) a pH 4.2. De todos modos es importante recordar que la interferencia y la selectividad son sólo términos relativos. Por tanto una baja selectividad indica que la interferencia será apreciable cuando el interferente este presente en cantidades superiores o similares a la de los iones primarios [74]. Por tanto, estos sensores potenciométricos pueden usarse para determinar plomo con adecuada exactitud en muestras donde las concentraciones de cobre (II) y mercurio (II) sean, respectivamente, aproximadamente 10 veces y 50 veces inferiores que la de los iones plomo (II).

**Tabla 11.** Coeficientes de selectividad,  $\log K_{Pb,M}$ , calculados por dos métodos para los sensores potenciométricos de plomo (II) y distintos cationes interferentes. Condiciones de trabajo: superficie del sensor renovada, pH 4.2 y actividad de los iones plomo (II)  $2.14 \times 10^{-4}$  M.

PLOMO				
Interferente	Sensor DTS		Sensor TS	
	MSM	MPM	MSM	MPM
Na <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0
K <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0
Ca <sup>2+</sup>	< -4.0	< -4.0	< -4.0	< -4.0
Mg <sup>2+</sup>	-0.55	-1.2	0.10	0.24
Zn <sup>2+</sup>	-1.45	< -4.0	-0.74	-3.16
Cd <sup>2+</sup>	-1.26	< -4.0	-0.16	-0.45
Cu <sup>2+</sup>	0.88	1.20	> 3.0	> 3.0
Hg <sup>2+</sup>	1.55	2.10	> 3.0	> 3.0
Al <sup>3+</sup>	-1.04	< -4.0	0.38	2.10
Fe <sup>3+</sup>	> 3.0	> 3.0	> 3.0	> 3.0

#### *Selectividad de la respuesta a mercurio*

Los coeficientes de selectividad para los iones mercurio (II) se han calculado de diferente forma. Para los sensores potenciométricos modificados con los ligandos DTS y TS los valores de las constantes de selectividad se obtienen empleando el SSM, mientras que en el caso del sensor TETDS se utiliza el MSM y el MPM. Para este último sensor los valores de los coeficientes de selectividad obtenidos por cada método son también muy similares, exceptuando algunos casos como el hierro (III) y cromo (III), por las limitaciones propias del MSM. Los valores de los coeficientes de selectividad de los tres sensores potenciométricos se muestran en la Tabla 12.

De los tres metales investigados, el mercurio (II) es el que presenta la respuesta más selectiva para los sensores modificados con los ligandos DTS, TS y TETDS. El resultado es lógico si se tiene en cuenta que todos los compuestos elegidos para la modificación de los sensores potenciométricos contienen átomos de azufre en su estructura. Estos átomos actúan como donadores exclusivos en la coordinación con los metales de transición, mientras que prácticamente no hay reacción, y si se produce esta es muy pequeña, entre ligandos que contienen azufre y los iones de metales alcalinos y alcalinotérreos. Entre los metales de transición el mercurio presenta gran afinidad por este tipo de ligandos. Por tanto se obtendrán las mejores selectividades hacia este metal pesado cuando estos compuestos se utilicen en el desarrollo de nuevos sensores [80].

Los valores de los coeficientes de selectividad para los sensores potenciométricos DTS, TS y TETDS muestran que la presencia de iones alcalinos y alcalino térreos en la disolución de medida no influye en la respuesta potenciométrica de los mismos. Estos sensores también se caracterizan por una alta selectividad para el mercurio (II) con respecto al resto de iones de los metales de transición más comunes. El valor del potencial obtenido con el sensor TETDS en los análisis de mercurio (II) puede verse ligeramente afectado por la presencia de iones hierro (III) y cobre (II) en la disolución. El sensor modificado con el ligando DTS también presenta interferencia a los iones hierro (III), pero no al cobre (II). En cambio el comportamiento del sensor TS es distinto, su respuesta potenciométrica apenas se ve afectada cuando en la disolución están presentes estos dos iones. Comparando los valores de los coeficientes de selectividad obtenidos para los sensores DTS y TS, se observa que la respuesta potenciométrica más selectiva para el mercurio (II) la presenta el sensor modificado con el ligando TS.



**Tabla 12.** Coeficientes de selectividad,  $\log K_{Hg,M}$ , calculados por diferentes métodos para los sensores potenciométricos de mercurio (II) y distintos cationes interferentes. Condiciones de trabajo: superficie del sensor renovada, pH 4.8 (sensores DTS y TS) y pH 6.0 (sensor TETDS) y actividad de los iones mercurio (II)  $2.14 \times 10^{-5}$  M (sensor TETDS) y  $2.14 \times 10^{-6}$  M (sensores DTS y TS).

MERCURIO				
Interferente	Sensor DTS	Sensor TS	Sensor TETDS	
	SSM	SSM	MSM	MPM
Na <sup>+</sup>	< -6.0	< -6.0	< -4.0	< -4.0
K <sup>+</sup>	< -6.0	< -6.0	< -4.0	< -4.0
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	< -6.0	< -6.0	< -4.0	< -4.0
Ca <sup>2+</sup>	-4.35	< -6.0	< -4.0	< -4.0
Mg <sup>2+</sup>	< -6.0	< -6.0	-2.04	< -4.0
Zn <sup>2+</sup>	< -6.0	< -6.0	< -4.0	< -4.0
Ba <sup>2+</sup>	--	--	< -4.0	< -4.0
Ni <sup>2+</sup>	--	--	-3.82	< -4.0
Co <sup>2+</sup>	--	--	< -4.0	< -4.0
Mn <sup>2+</sup>	--	--	< -4.0	< -4.0
Pb <sup>2+</sup>	-3.25	< -6.0	-3.62	< -4.0
Cd <sup>2+</sup>	-3.95	< -6.0	-3.87	< -4.0
Cu <sup>2+</sup>	-3.97	-1.25	-0.16	0.76
Cr <sup>3+</sup>	--	--	-1.84	< -4.0
Al <sup>3+</sup>	-4.43	< -6.0	-1.77	-2.47
Fe <sup>3+</sup>	> 3.0	-1.82	-0.97	0.52

### IV. 2. CARACTERIZACIÓN DE LAS ESPECIES QUÍMICAS FORMADAS EN LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES.

Entre las cuestiones de interés, con respecto al proceso electródico en los sensores de pasta de carbón, se encuentra la caracterización de la especie química que se forma en la superficie del sensor, que es la responsable de la respuesta electrónica. Para llevar a cabo este estudio, se caracterizan las superficie de los sensores antes y después de entran en contacto con disoluciones que contienen los iones cobre (II), mercurio (II) o plomo (II).

En primer lugar, mediante el empleo de la Microscopía Electrónica de Barrido (SEM-EDAX), se estudian los cambios que se han producido en la superficie de los sensores después de entrar en contacto con disoluciones que contiene los iones metálicos. De este modo se puede confirmar la formación de un complejo entre el receptor presente en la superficie del sensor y el ión metálico, además de estimar la posible estequiometría del mismo.

En un segundo se estudio se aborda el cálculo de la constante de formación condicional de dicho complejo en la superficie del sensor mediante medidas voltamperométricas de redisolución anódica, utilizando el propio sensor como electrodo de trabajo.

Para el desarrollo del presente estudio se eligen solamente los sensores potenciométricos modificados con los ligandos DTS y TS, estudiándose las interacciones que tienen lugar con cada uno de los tres metales ensayados.

#### **IV. 2.1. Caracterización de las especies químicas formadas en la superficie de los sensores mediante SEM-EDAX.**

El objetivo del presente apartado es estudiar, mediante una técnica de superficie como SEM-EDAX, la formación de los correspondientes complejos metálicos en la superficie de los sensores y establecer las posibles similitudes con la reactividad en disolución.

La incorporación del ligando en el electrodo impone limitaciones estéricas a la reacción con los metales. Por ello, es de esperar que aunque en disolución sean posibles estequiometría 1:2 y 1:1, metal:ligando, sea esta última la más favorable en la superficie del electrodo [121, 142, 155].

La ruptura del enlace S-S en la molécula de DTS para dar dos moléculas del ligando TS puede producirse con relativa sencillez durante la formación de los complejos en disolución, aunque no siempre se ha observado. De hecho, esta ruptura se produce en la formación de complejos de mercurio con ligandos que contienen este mismo enlace [112]. Teniendo en cuenta los impedimentos de reacción que encuentra la molécula del DTS en la superficie del sensor, podría suponerse que en estas condiciones no se produce dicha ruptura.

Para confirmar la formación de los complejos entre el ligando modificador de la pasta de carbón y el correspondiente catión metálico, así como su estequiometría, se obtuvieron imágenes de la superficie de los sensores modificados mediante SEM-EDAX. Para mejorar la sensibilidad y exactitud del análisis se empleo un equipo con analizador no sensible a los átomos de carbono, reduciendo así los fondos obtenidos en las medidas semicuantitativas.

Se analizaron muestras de pasta de carbón sin modificar y pasta modificada con un 24.1 % de DTS y TS, preparadas de acuerdo con el procedimiento indicado en el apartado III. 2, después de su inmersión durante 30 minutos en una disolución que contiene el electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  en concentración 0.1 M.

Las imágenes obtenidas tras la metalización de las muestras se muestran en la Figura 18. Como puede apreciarse, no hay diferencias significativas entre las imágenes tomadas a las

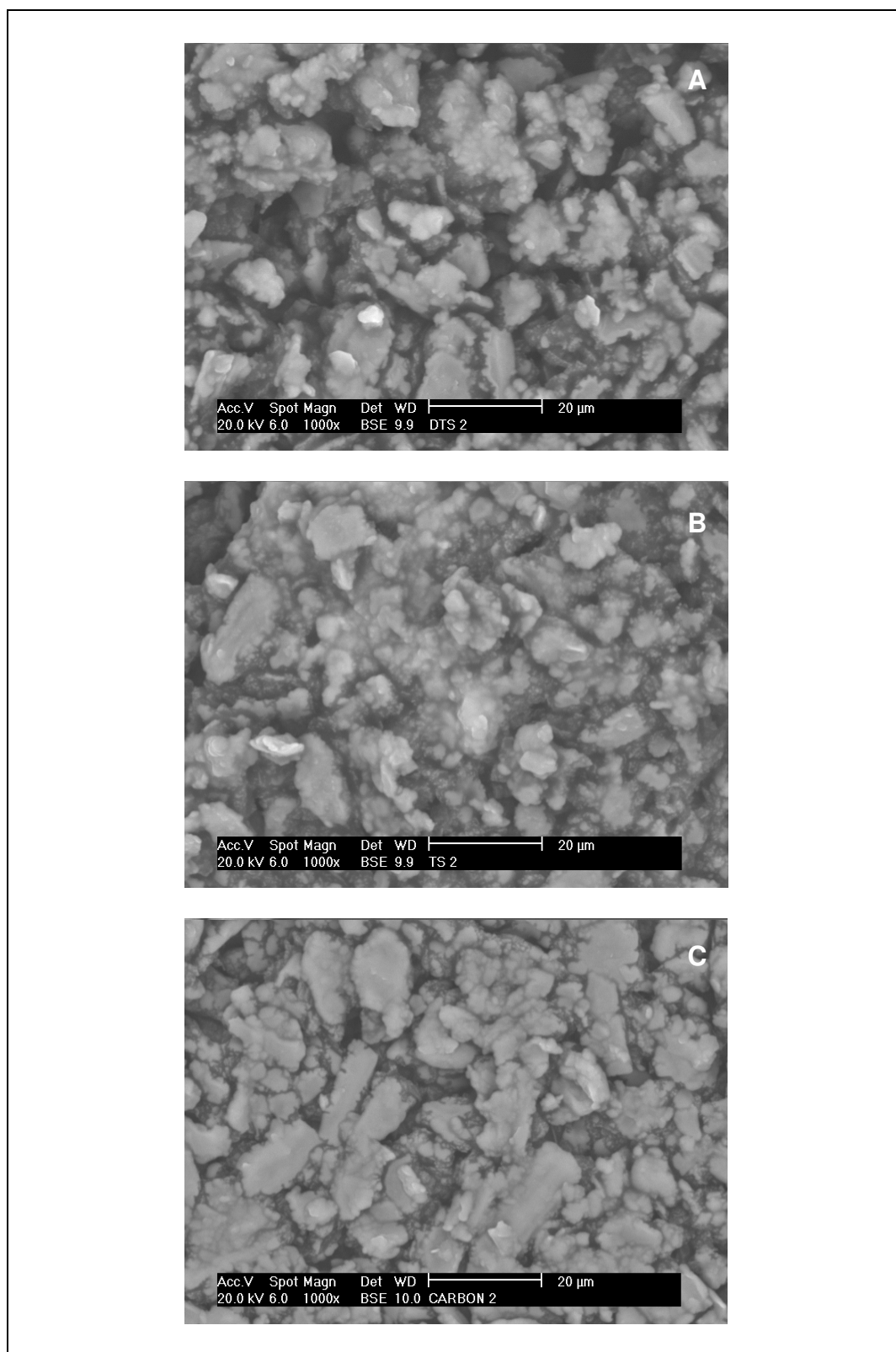
pastas modificadas y a la pasta base. Si se realiza un análisis de la superficie de cada una de las muestras, en el caso de la pasta sin modificar o pasta base, lo único que se detecta es la presencia de oro. La Figura 19 muestra el análisis de la superficie de las pastas modificadas con los ligandos DTS y TS. En estos casos, además de detectarse el oro procedente de la metalización de la muestra, se ve la presencia de átomos de azufre que corresponden a las moléculas del ligando presentes en las pastas. La proporción de oro y azufre es la misma en ambos casos, de acuerdo con el porcentaje de modificador de las pastas y las distintas fórmulas empíricas y pesos moleculares de los ligandos.

Se realizó igualmente el análisis de las pastas de carbón modificadas con un 24.1 % de los ligandos DTS y TS cuando han estado sumergidas en disoluciones de concentración  $1.00 \times 10^{-3}$  M de cobre (II), plomo (II) y mercurio (II) en presencia de electrolito soporte.

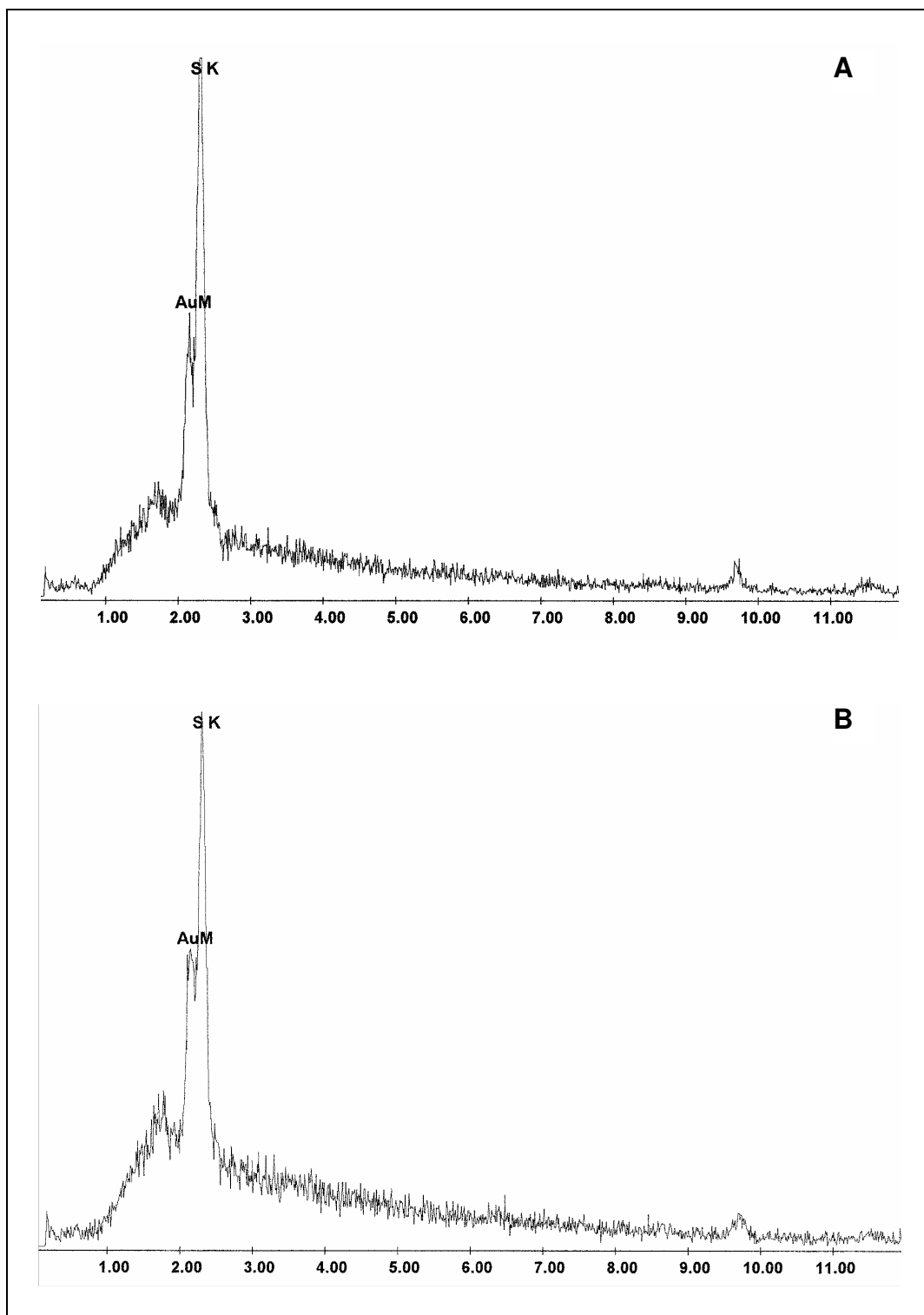
### *Estudio SEM-EDAX de los compuestos de reacción cobre-receptor*

Las imágenes obtenidas y los análisis EDAX realizados para los sensores activados con disolución de cobre (II) se presentan en las Figuras 20-23. En la Tabla 13 se muestran los resultados obtenidos en el análisis semicuantitativo EDAX.

En el análisis de todas las muestras se sigue el procedimiento descrito anteriormente. Primero, se realiza una fotografía y análisis general de las dos superficies modificadas con los ligandos DTS y TS, (Figuras 20 y 22 respectivamente) con el fin de estudiar la distribución del metal pesado en la superficie. Posteriormente, se realiza un análisis de los agregados que contienen cobre y que presumiblemente son partículas de complejo formado en la superficie de cada una de las muestras (Figuras 21 y 23). Como puede verse en las Figuras 20 y 22, en el estudio general de las muestras se distinguen agregados brillantes distribuidos por toda la superficie, que podrían corresponder a los complejos. En ambas muestras, las posibles partículas de complejo se encuentran incluidas en la pasta de carbón.



**Figura 18.** Imágenes SEM de pastas que han estado en contacto durante 30 minutos con una disolución de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M. (**A** – pasta modificada con 24.1 % DTS, **B** – pasta modificada con 24.1% TS, **C** – pasta sin modificar)



**Figura 19.** Análisis EDAX de pastas que han estado en contacto durante 30 minutos con una disolución de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M. (**A** – pasta modificada con 24.1 % DTS, **B** – pasta modificada con 24.1% TS).

**Tabla 13.** Composición elemental de las muestras mostradas en las Figuras 20-23 obtenidas mediante análisis EDAX de superficie.

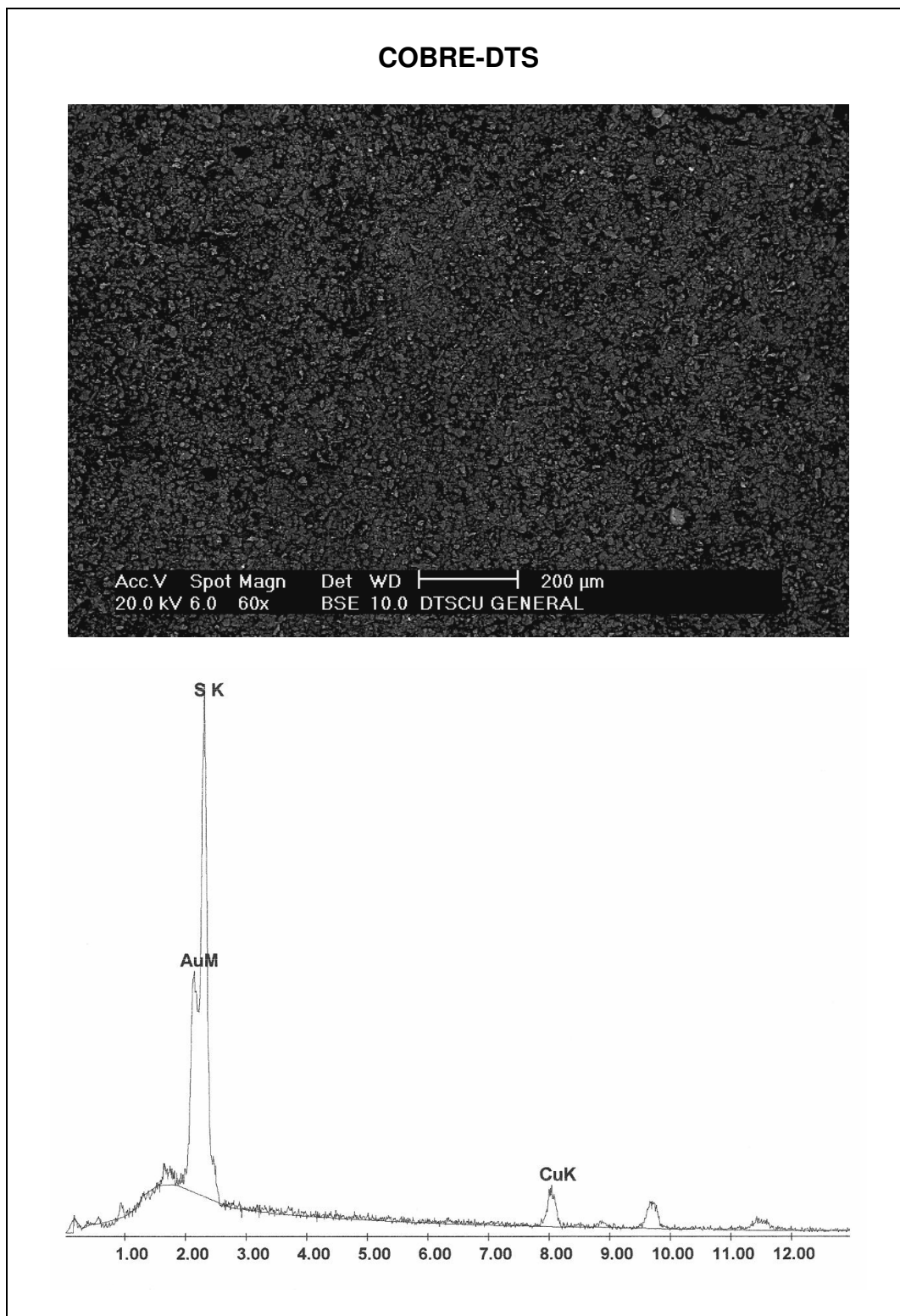
Ligando	Análisis	% átomos de Cu	% átomos de S	Proporción Cu:S
DTS	General*	13.7	86.3	1:6
DTS	Agregados con Cu	35.1	64.9	1:2
TS	General*	24.0	76.0	1:3
TS	Agregados con Cu	49.5	50.5	1:1

\* Análisis de la superficie del sensor con un campo de visión de 200  $\mu\text{m}$  para DTS y 500  $\mu\text{m}$  para el TS.

Se realiza el análisis elemental semicuantitativo de las muestras para determinar la relación cobre:azufre en la superficie de las pastas modificadas, lo que permite establecer la composición del complejo. En los análisis generales, la proporción de átomos de azufre con respecto a los de cobre es mayor que la unidad, lo que podría indicar que el cobre no ha complejoado todo el ligando presente en la superficie del sensor. En cambio, cuando se realiza un análisis localizado en uno de los agregados de complejo, la cantidad de átomos de cobre presentes en relación con los de azufre aumenta para ambas muestras. Las relaciones obtenidas para todos los análisis se muestran en la Tabla 13. Los resultados obtenidos en los análisis realizados sobre las posibles partículas del complejo nos indican que dos átomos de azufre se encuentran unidos a un átomo de cobre para la muestra DTS, mientras que para la muestra TS la proporción es de un átomo de cobre y por cada átomo de azufre. Por tanto, se confirma en ambos casos la formación del complejo de estequiometría 1:1 entre las moléculas de ligando y los átomos de cobre (II).

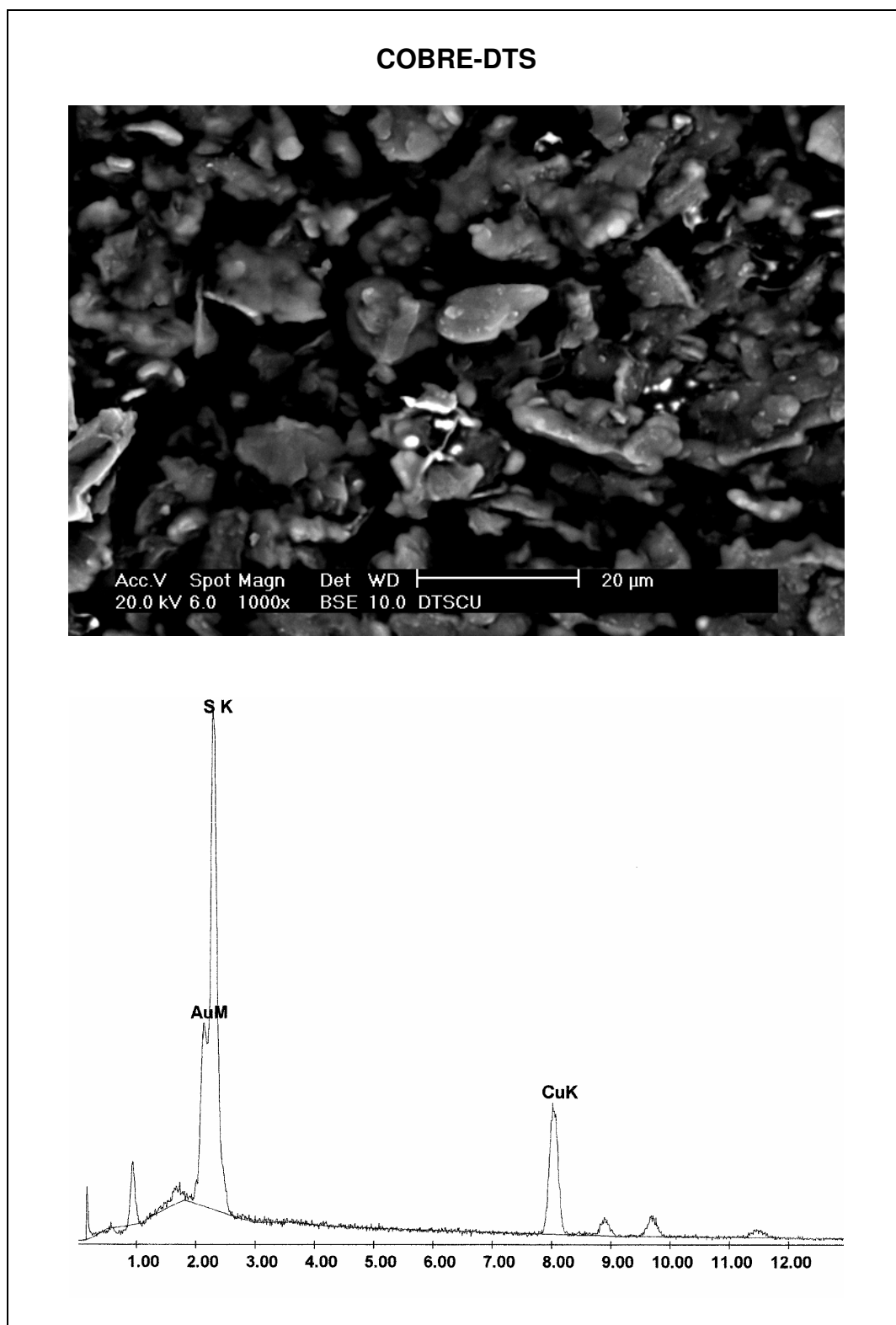
#### *Estudio SEM-EDAX de los compuestos de reacción plomo-receptor*

Las pastas de carbón modificadas que han estado en contacto con la disolución de plomo se pueden analizar directamente en el microscopio electrónico sin necesidad de metalizarlas previamente con oro. Las imágenes y gráficos de los análisis EDAX se muestran en las Figuras 24-27, y la composición elemental obtenida por el análisis semicuantitativo de superficie EDAX en la Tabla 14.

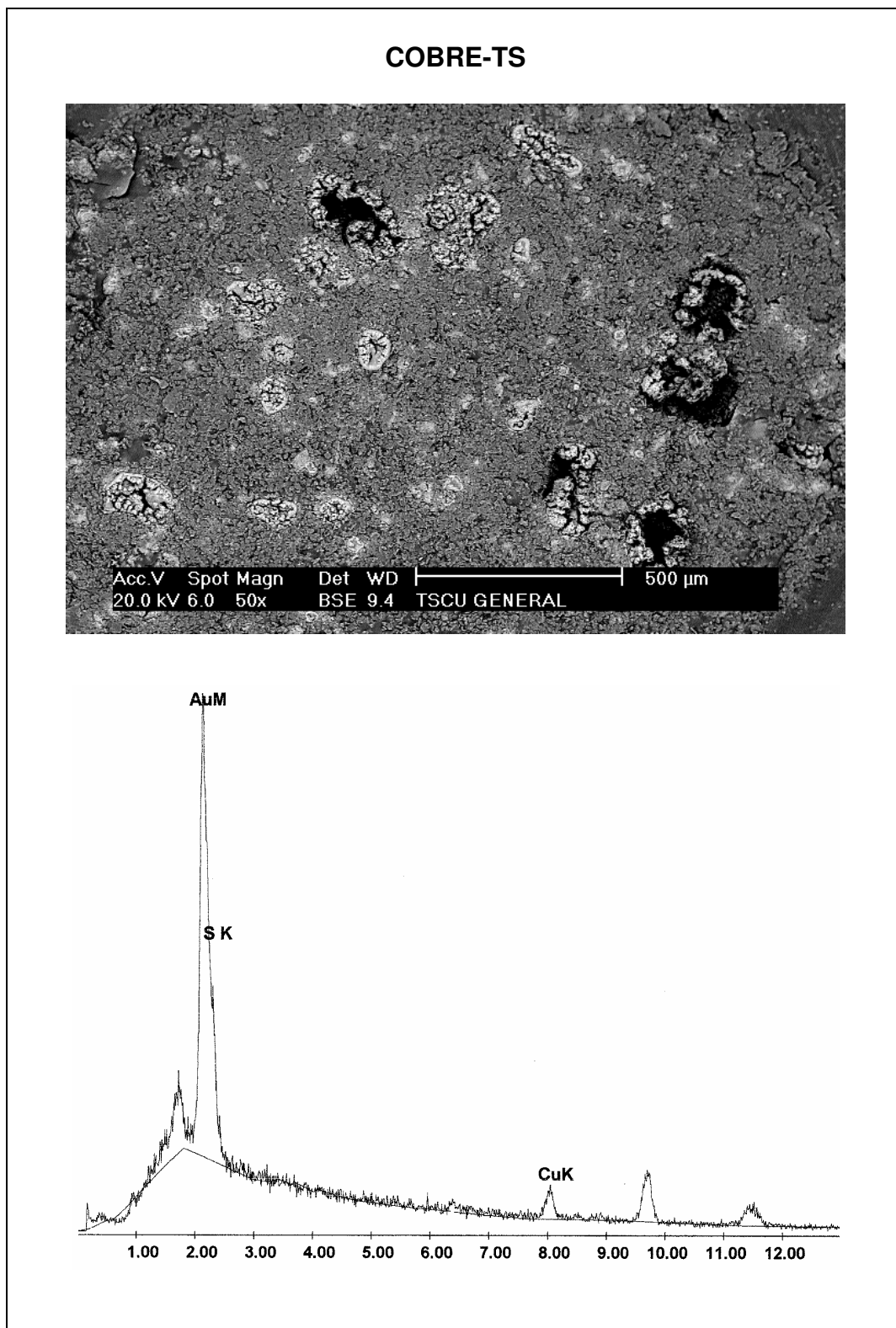


**Figura 20.** Imágenes de SEM y análisis EDAX del análisis general en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando DTS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de cobre (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH =6.0).

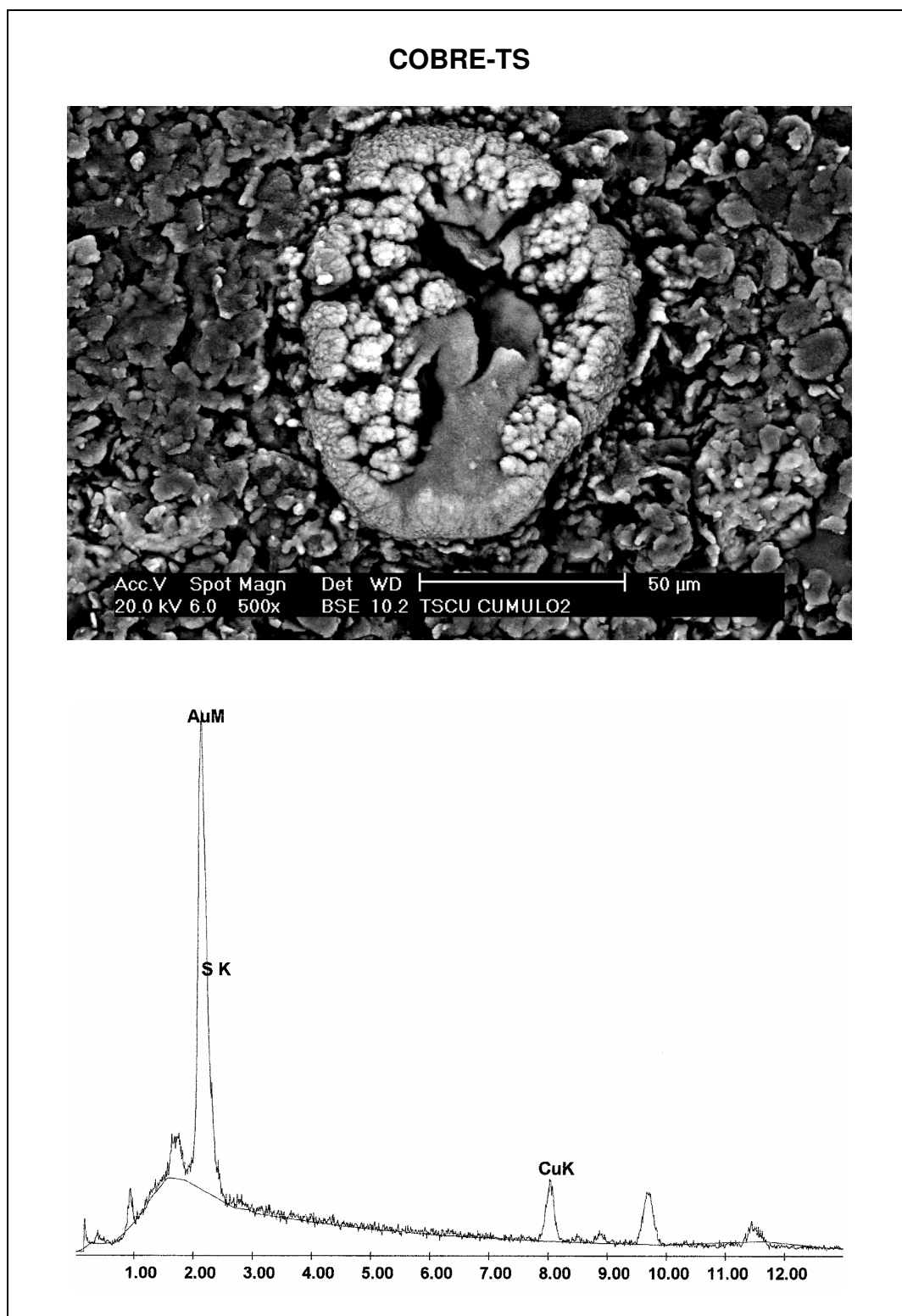




**Figura 21.** Imágenes de SEM y análisis EDAX de un agregado que contiene cobre en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando DTS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de cobre (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH =6.0).



**Figura 22.** Imágenes de SEM y análisis EDAX del análisis general en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando TS que han estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de cobre (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH =6.0).



**Figura 23.** Imágenes de SEM y análisis EDAX de un agregado que contiene cobre en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando TS que han estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de cobre (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH =6.0).

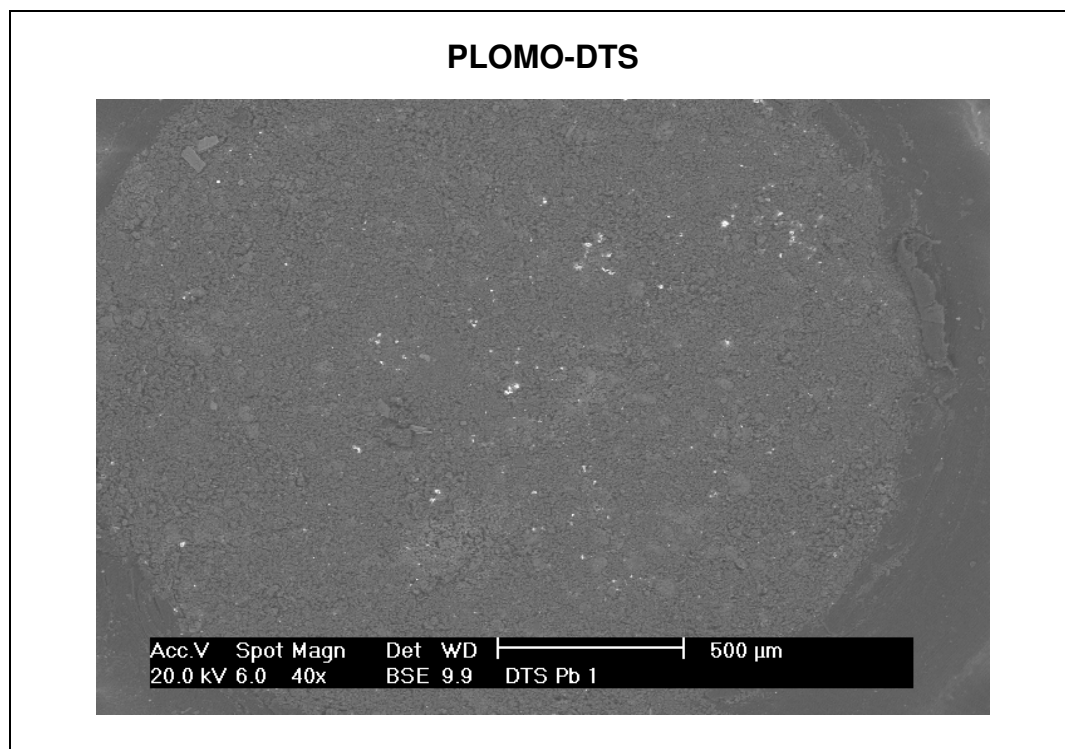
En las microfotografías (Figura 24 y 26.A) se distinguen agregados distribuidos por toda la superficie, que corresponden al complejo formado entre los iones plomo (II) y el correspondiente ligando. En el caso de la pasta modificada con el ligando TS, los agregados se observan sobre la superficie de la muestra. Estos agregados se presentan con forma de agujas en la pasta del ligando TS y con una forma más circular para la pasta DTS. Cuando se realiza el análisis elemental de estas imágenes se distinguen átomos de azufre que pertenecen a las moléculas del ligando y átomos de plomo. Para ambas muestras es superior la proporción de átomos de azufre que la de plomo, tal y como ocurría en el caso del cobre, aunque ahora el exceso de ligando es mayor. Este resultado indicaría una menor formación del complejo de plomo en la superficie, frente al de cobre.

Para intentar establecer la relación estequiométrica entre el plomo y el ligando en el complejo formado, se enfoca en una zona donde se encuentran los agregados brillantes observados en el análisis general. Las Figuras 25 y 27 muestran el análisis elemental y las fotografías obtenidas para los agregados que contienen plomo. En ambas muestras, la proporción de átomos de plomo aumenta considerablemente obteniendo relaciones plomo: azufre 1:2 y 1:1 para las pastas modificadas con los ligandos DTS y TS, respectivamente. El ligando DTS contiene dos átomos de azufre en su estructura y mientras que el TS solamente tiene uno, por lo que estas relaciones indican la posible formación de complejos entre el plomo y los ligandos DTS y TS de estequiometría 1:1 en ambos casos.

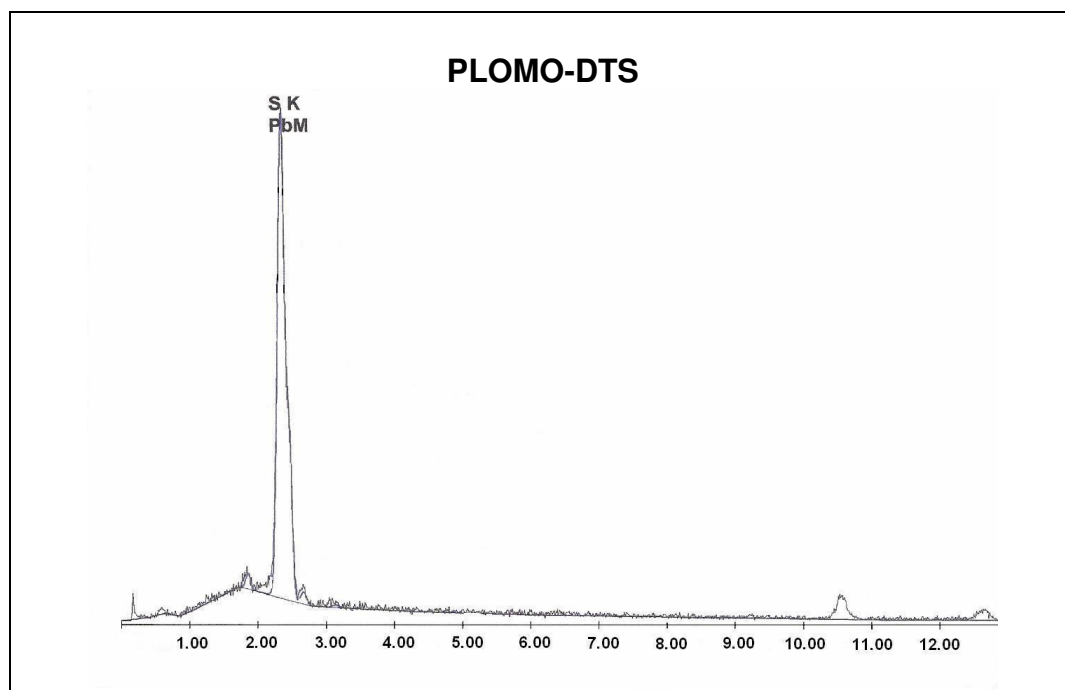
**Tabla 14.** Composición elemental de las muestras mostradas en las Figuras 24-27 obtenidas mediante análisis EDAX de superficie.

Ligando	Análisis	% átomos de Pb	% átomos de S	Proporción Pb:S
DTS	General*	4.3	95.7	1:22
DTS	Agregados con Pb	31.9	68.1	1:2
TS	General*	14.9	85.1	1:6
TS	Agregados con Pb	47.6	52.4	1:1

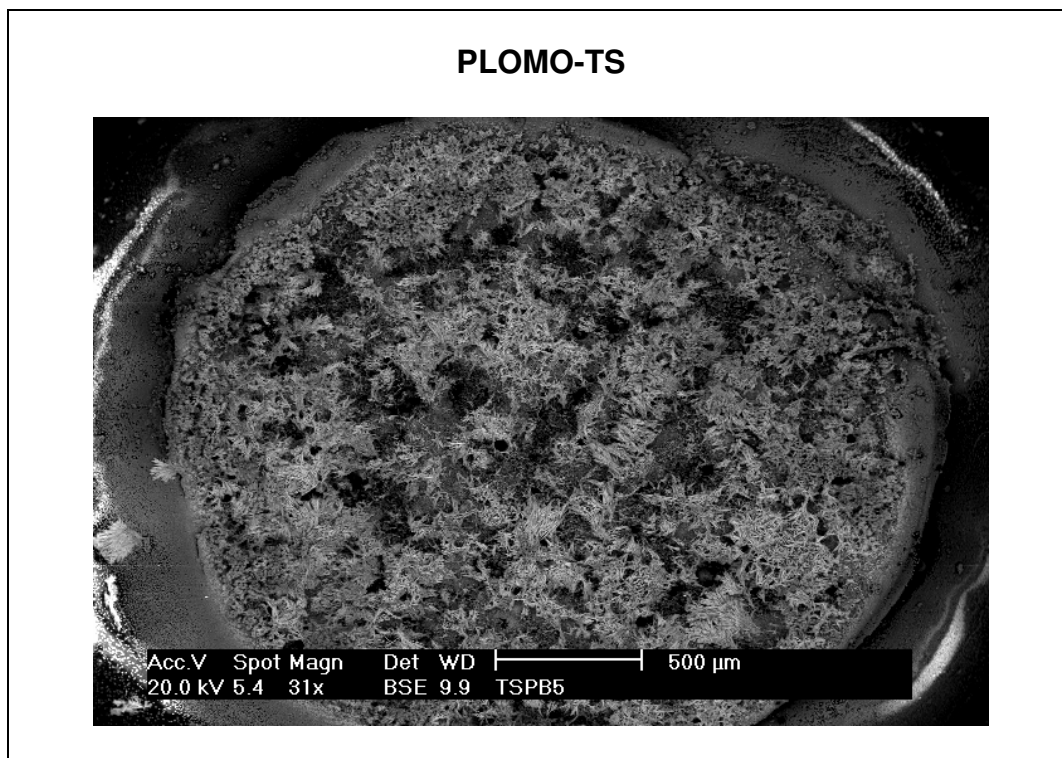
\* Análisis de la superficie del sensor con un campo de visión de 500  $\mu\text{m}$ .



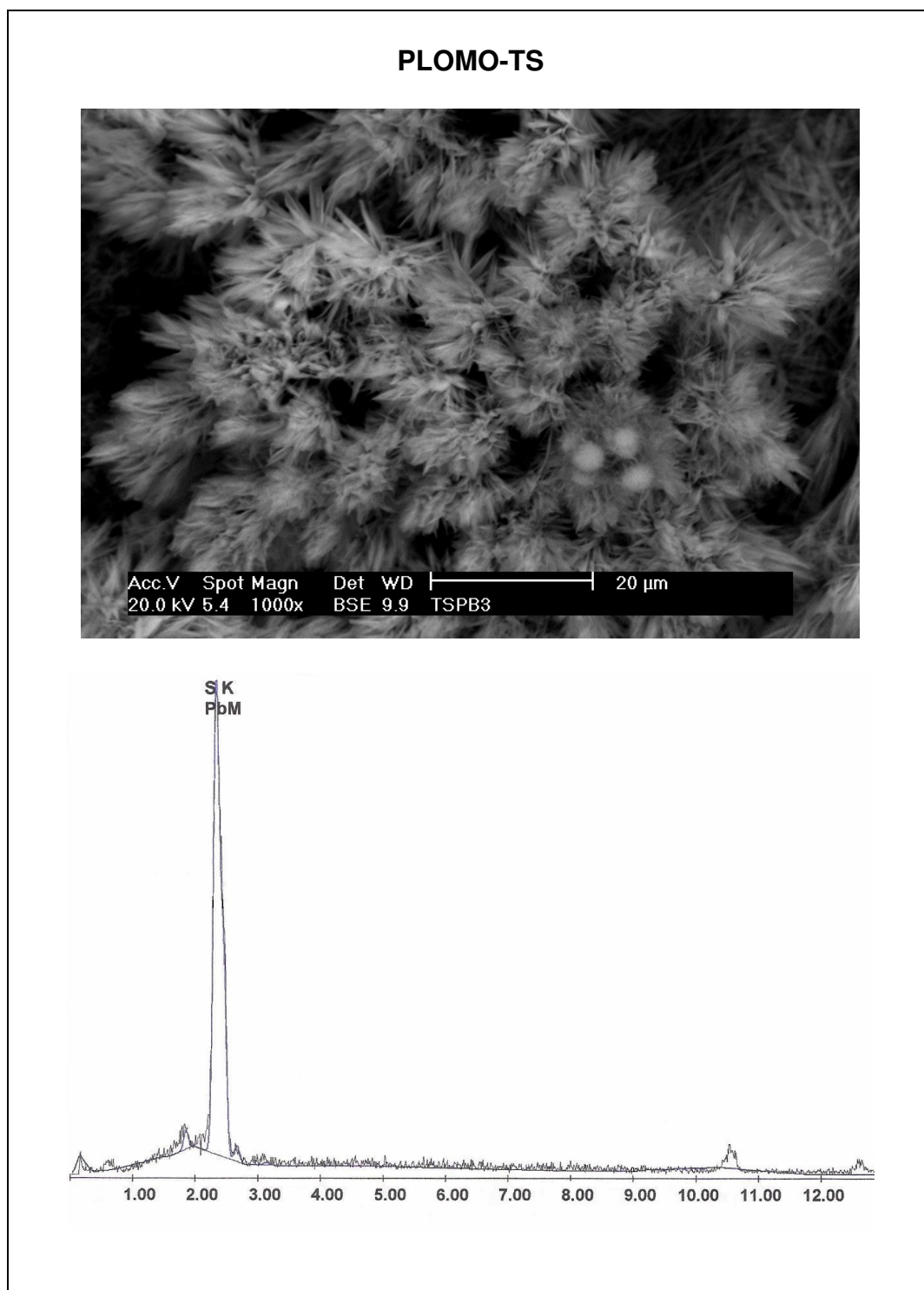
**Figura 24.** Imagen de SEM del análisis general en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando DTS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de plomo (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH = 6.0).



**Figura 25.** Análisis EDAX de un agregado que contiene plomo en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando DTS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de plomo (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH = 6.0).



**Figura 26.** Imagen de SEM del análisis general en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando TS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de plomo (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH =6.0).



**Figura 27.** Imágenes de SEM y análisis EDAX de un agregado que contiene plomo en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando TS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de plomo (II)  $1.00 \times 10^{-3}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH =6.0).

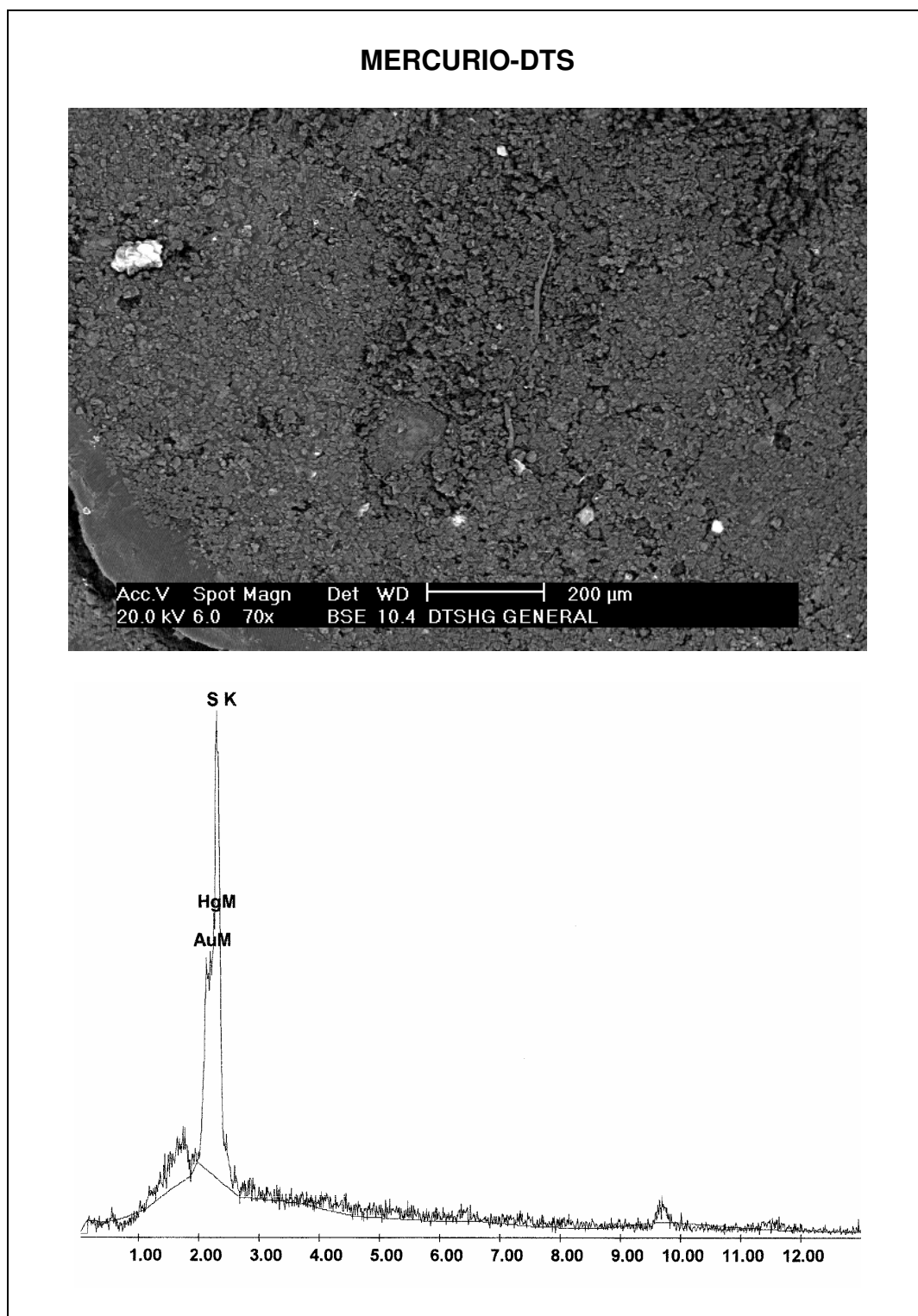
### *Estudio SEM-EDAX de los compuestos de reacción mercurio-receptor*

Las imágenes y resultados obtenidos en estos análisis se muestran en las Figuras 28-31 y en la Tabla 15.

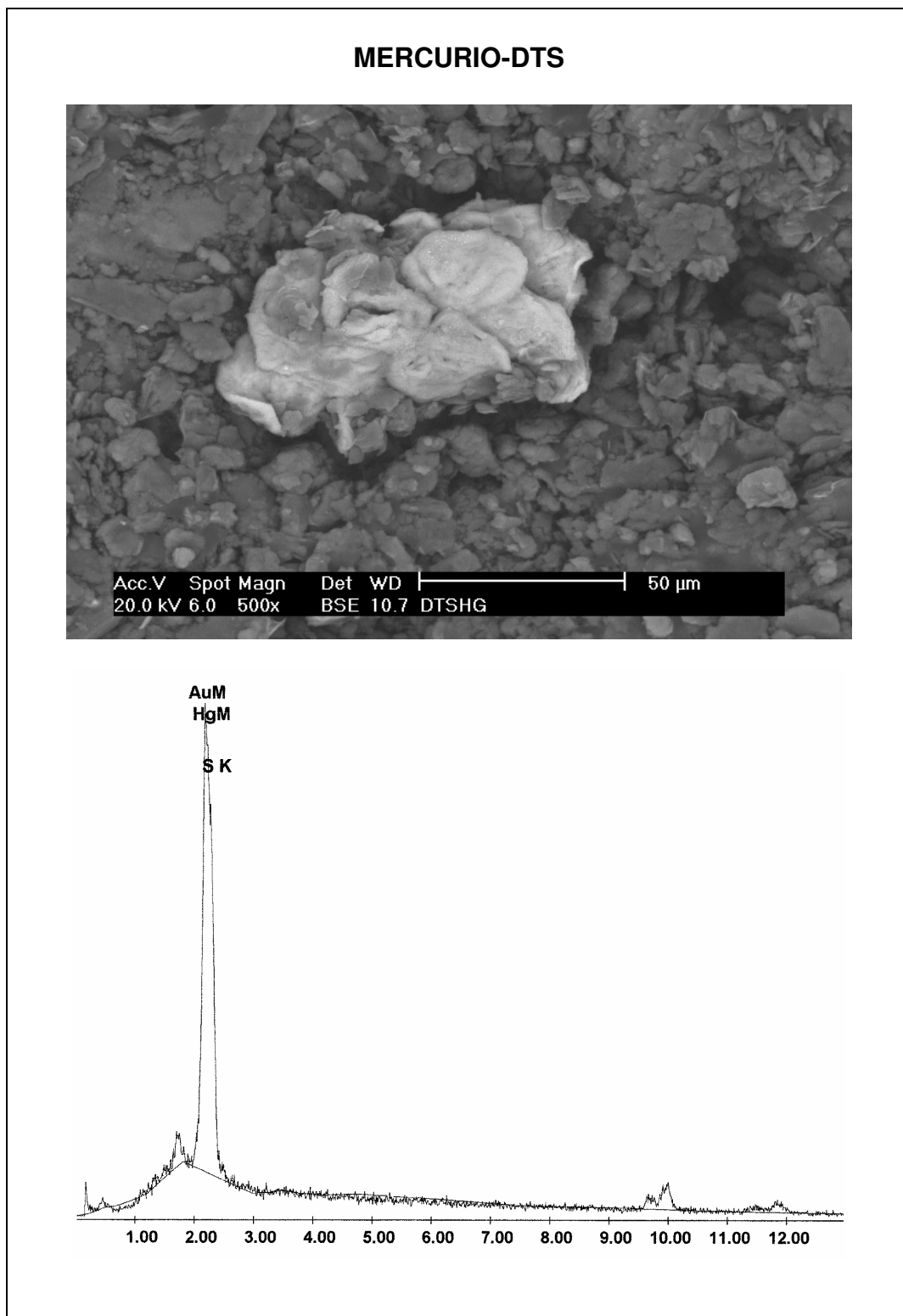
Cuando se observan las imágenes obtenidas en el análisis general de las muestras DTS y TS (Figuras 28 y 30) que han estado en contacto con los iones mercurio (II) se constata que es difícil distinguir los agregados que contienen mercurio. Las imágenes de estos agregados en las muestras DTS y TS se muestran en las Figuras 29 y 31 respectivamente. Es llamativa la diferente forma de los agregados obtenidos con cada ligando. Así, en la muestra modificada con el ligando TS los agregados se presentan en forma de hilos distribuidos sobre la pasta de carbón. En cambio, en las muestras del ligando DTS, además de ser más difícil localizar los agregados (lo que indica que se encuentran en la pasta y no sobre su superficie) éstos presentan una forma más globular.

. En la Tabla 15 se muestran los resultados obtenidos en cada uno de los análisis semicuantitativos realizados. En el análisis general de ambas muestras la proporción de átomos de mercurio frente a los de azufre es muy baja, al igual que ocurre en los análisis generales realizados en las muestras de los otros elementos. Esta proporción aumenta cuando se realiza el análisis de los agregados, que presumiblemente pueden ser las partículas de complejo en cada una de las dos muestras. En la muestra modificada con el ligando DTS la relación obtenida es de un átomo de mercurio por cada átomo de azufre. Teniendo en cuenta que cada molécula de este ligando presenta dos átomos de azufre en su estructura, esta proporción nos indicaría la posible formación de un complejo de estequiometría mercurio: ligando 2:1, estequiometría que no ha sido observada en los estudios en disolución. La proporción obtenida en la muestra modificada con el ligando TS, cuando se realiza un análisis de lo que podría ser una partícula del complejo es de un átomo de mercurio por cuatro de azufre. Como en este caso cada molécula de ligando posee un átomo de azufre, podría indicar una relación metal:ligando 1:4.

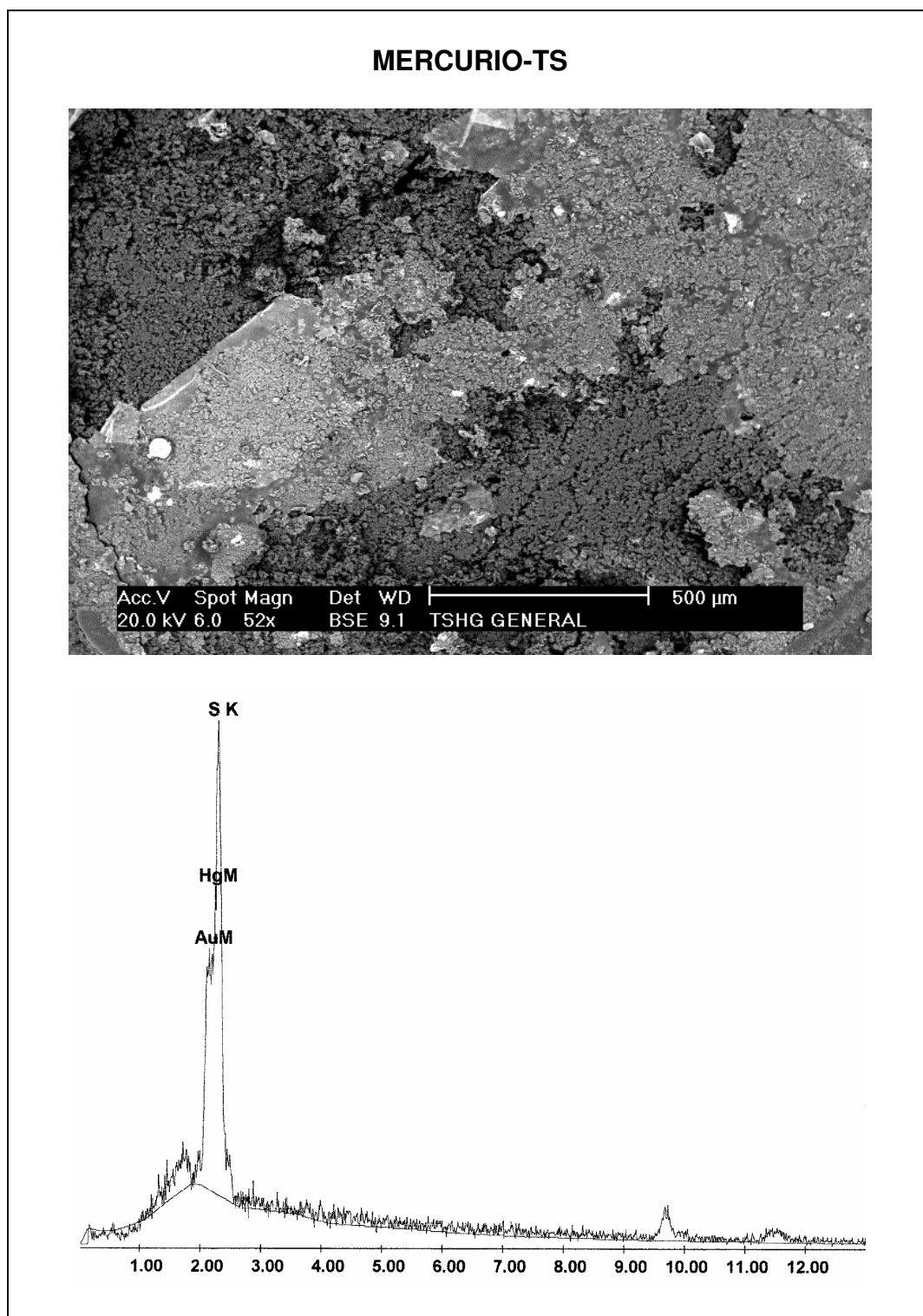




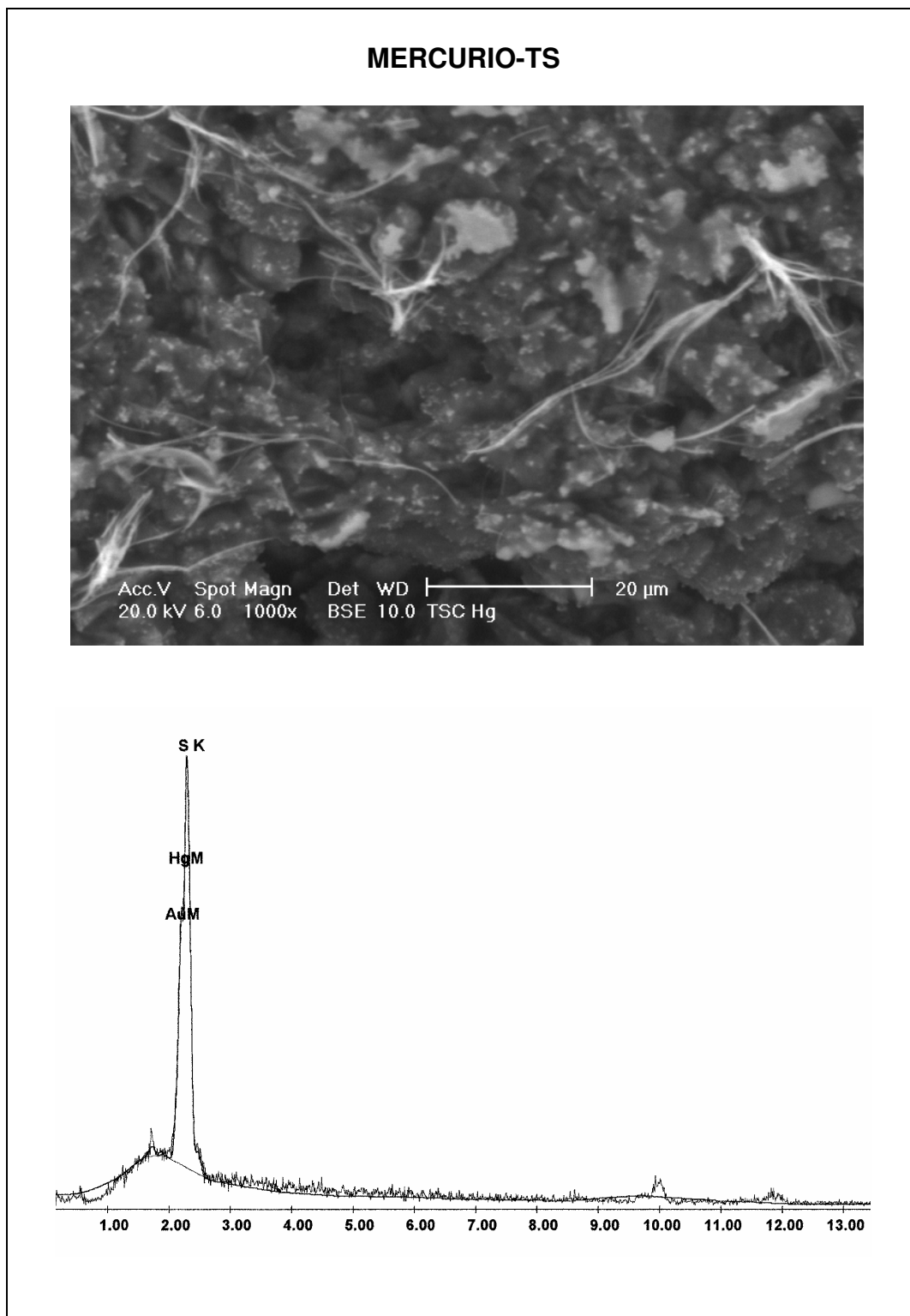
**Figura 28.** Imágenes de SEM y análisis EDAX del análisis general en la pasta modificada con un 24.1 % del ligando DTS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de mercurio (II)  $2.00 \times 10^{-4}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y  $\text{HAc/NaAc}$  0.01 M (pH =4.8).



**Figura 29.** Imágenes de SEM y análisis EDAX de un agregado que contiene mercurio en la pasta modificada con un 24.1 % del ligando DTS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de mercurio (II)  $2.00 \times 10^{-4}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y  $\text{HAc}/\text{NaAc}$  0.01 M (pH =4.8).



**Figura 30.** Imágenes de SEM y análisis EDAX del análisis general en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando TS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de mercurio (II)  $2.00 \times 10^{-4}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y  $\text{HAc/NaAc}$  0.01 M (pH =4.8).



**Figura 31.** Imágenes de SEM y análisis EDAX de un agregado que contiene mercurio en la pasta modificada con un 24.1 % de ligando TS que ha estado durante 30 minutos en contacto con una disolución de mercurio (II)  $2.00 \times 10^{-4}$  M en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y  $\text{HAc/NaAc}$  0.01 M (pH =4.8).

**Tabla 15.** Composición elemental de las muestras mostradas en las Figuras 28-31 obtenidas mediante análisis EDAX de superficie.

Ligando	Análisis	% átomos de Hg	% átomos de S	Proporción Hg:S
DTS	General*	7.1	92.9	1:13
DTS	Agregados con Hg	53.9	46.1	1:1
TS	General*	6.6	93.4	1:14
TS	Agregados con Hg	20.9	79.1	1:4

\* Análisis de la superficie del sensor con un campo de visión de 200  $\mu\text{m}$  para DTS y 500  $\mu\text{m}$  para el TS.

Como se ha comentado en la introducción de esta memoria, el mercurio (II) puede formar en disolución complejos de estequiometría 1:1 y 1:2 con el TS. Además si la formación del complejo tiene lugar en fase sólida, debido a las dificultades estéricas que encuentran los átomos del metal y del ligando para poder formar los correspondientes enlaces, los complejos formados en estas condiciones podrían esperarse de estequiometría 1:1. Los resultados obtenidos en este estudio para el posible complejo formado entre los iones mercurio (II) y el ligando TS indican una relación metal:ligando 1:4. Con la información que se dispone resulta incoherente pensar en la posible formación de un complejo de esa estequiometría entre esas dos especies. Probablemente lo que se observa es la incompleta formación del complejo de estequiometría 1:1 en la superficie del sensor.

Por otra parte, la proporción atómica obtenida para el posible complejo formado entre el ligando DTS y el mercurio (II) también resulta controvertida. Aunque no se dispone de información sobre los posible complejos formados entre este ligando y los iones mercurio (II), los estudios que han realizado diversos autores con otras especies metálicas indican la formación de complejos de estequiometría 1:1 ó 1:2 metal:ligando. Considerando que para los iones mercurio, se formarían los complejos de estequiometrías similares, la posible estequiometría 2:1 obtenida en el análisis semicuantitativo EDAX, no concuerda con los resultados esperados.

### IV. 2.2. Análisis de los sólidos de los complejos de mercurio con los ligandos DTS y TS en disolución.

Con el fin de obtener más información sobre el proceso que tiene lugar en la superficie de los sensores cuando entran en contacto con una disolución de los iones mercurio (II), se lleva a cabo la síntesis de los complejos de mercurio con ambos ligandos.

La síntesis se realiza añadiendo sobre una disolución del correspondiente ligando en metanol, la disolución acuosa de los iones mercurio (II). Para la síntesis de los complejos con el ligando TS se preparan 25.0 ml de disolución acuosa de  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  y 25.0 ml de disolución en metanol de este ligando, de tal modo que al mezclar las dos disoluciones se obtengan las cantidades estequiométricas necesarias para tener proporciones metal:ligando 2:1, 1:1, y 1:2. Para sintetizar los complejos del ligando DTS se sigue el mismo procedimiento, aunque en este caso el volumen de las disoluciones de metal y de ligando es de 50.0 ml. En todos los casos, la disolución del ligando se introduce en un baño de ultrasonidos sobre la que se va añadiendo poco a poco la disolución acuosa de mercurio (II). Se produce la rápida aparición de un precipitado de color blanco, en el caso del ligando TS, siendo la precipitación más lenta con el ligando DTS. Después de añadir la disolución de metal, las mezclas se dejan en reacción durante 15 minutos más en el baño de ultrasonidos. Transcurrido ese tiempo las mezclas de reacción se conservan tapadas en la oscuridad durante 24 h. El sólido obtenido se separa por filtración, lavando el precipitado con metanol: agua al 50 %. Por último, los precipitados se secaron durante 48 h a 30 °C en ausencia de luz.

Los precipitados obtenidos en todas las mezclas que contienen el ligando TS son de color blanco. En cambio, los precipitados de las mezclas 1:1, 2:1 y 1:2 de los ligandos DTS son de color gris claro, gris oscuro y marrón claro respectivamente.

Para determinar la posible relación metal:ligando en los sólidos formados en cada una de las mezclas entre los iones mercurio (II) y el correspondiente ligando TS o DTS, se efectúa la determinación del contenido de mercurio en los sólidos obtenidos previa digestión de las mismas en horno microondas.

Para ello, se pesan 0.0100 g de cada uno de los sólidos, que se tratan con 2.0 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado y 0.5 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , en digestores de PFA. La digestión se realiza aplicando un programa de potencias, controlando que durante todo el proceso no se superen los  $260^\circ\text{C}$  de temperatura y los 30 bar de presión. Para realizar la digestión, primero se aplican 300 W durante 4 minutos, luego se aumenta la potencia desde 400 a 600 W durante 6 minutos, y por último durante 15 minutos se aplican 800 W de potencia. Transcurridos al menos 15 minutos durante los cuales se produce el enfriamiento de las muestras, las disoluciones obtenidas se transfieren a un matraz de 100.0 ml que se lleva a volumen con agua ultrapura.

El porcentaje de mercurio que contiene cada uno de los sólidos se determina mediante el análisis por espectroscopía de absorción atómica de la concentración de mercurio que contienen las disoluciones obtenidas tras realizar la digestión. La calibración del análisis se realiza con disoluciones patrón de mercurio de concentraciones comprendidas entre 0-80 mg/l en  $\text{HNO}_3$  al 2 %, preparadas por adecuada dilución de una disolución patrón comercial de mercurio de 1000 mg/l. La determinación de mercurio se lleva a cabo a una longitud de onda de 253.8 nm, utilizando como atomizador la llama de aire-acetileno en las condiciones recomendadas por el fabricante. En la Tabla 16 se muestran el porcentaje de mercurio obtenido para cada uno de los sólidos sintetizados, y el porcentaje teórico que se obtendría suponiendo cada una de las posibles estequiometrías.

**Tabla 16.** Porcentajes teóricos de mercurio y porcentajes de mercurio obtenidos de los posibles complejos formados entre los ligandos DTS y TS y los iones mercurio (II).

Possible estequiometría	% Hg obtenido	% Hg teórico
2 Hg : 1 TS	47.3	72.2
1 Hg : 1 TS	42.9	56.5
<b>1 Hg : 2 TS</b>	<b>38.1</b>	<b>39.4</b>
2 Hg : 1 DTS	37.9	56.7
<b>1 Hg : 1 DTS</b>	<b>41.5</b>	<b>39.6</b>
1 Hg : 2 DTS	42.4	24.7

Los sólidos obtenidos cuando se mezclan disoluciones de mercurio y de ligando TS presentan porcentajes de mercurio próximos al valor de 39.4 %, correspondiente al resultado teórico obtenido para el complejo de estequiometría 1:2 (metal:ligando). Estos datos indican que a pesar de las distintas relaciones de concentración metal:ligando de las mezclas, parece que en todos los casos se formaría el complejo de estequiometría 1:2 entre el mercurio (II) y el ligando TS.

En el caso de los sólidos obtenidos a partir de disoluciones que contienen el ligando DTS, los datos obtenidos son próximos a 39.6 %, resultado que corresponde al valor teórico obtenido para el complejo de estequiometría 1:1. Por tanto, podría pensarse que en el caso de las mezclas que contienen el ligando DTS, independientemente de la relación de concentraciones metal:ligando de las mezclas, se forma en todos los casos el complejo de estequiometría 1:1. Pero hay que tener en cuenta que podría producirse la ruptura del enlace S-S de la molécula del DTS, dando lugar dos moléculas de TS. Como los porcentajes teóricos de mercurio obtenidos para los complejos de estequiometría 1:1, y 1:2 de los ligandos DTS y TS, respectivamente, tienen prácticamente el mismo valor (39.4 y 39.6) solamente con estos resultados no puede saberse con certeza si se produce o no esa ruptura.

Para intentar confirmar la posible ruptura del enlace S-S en la molécula de DTS se construyen sensores modificados con los sólidos Hg-DTS 1:1 y Hg-TS 1:2. Se preparan pastas de carbón modificadas con un 24.1 % de cada uno de estos sólidos, con los que se fabrican sensores de pasta de carbón, siguiendo el procedimiento descrito en el apartado III. 2 de este trabajo. Luego, se evalúa la respuesta potenciométrica de ambos sensores en función de la actividad de los iones mercurio (II) a un pH de 4.8, tal y como se describe en el apartado III. 3 de esta memoria. En la Figura 32 se muestran los resultados obtenidos para estos dos sensores y para el sensor modificado con un 24.1 % del ligando DTS.

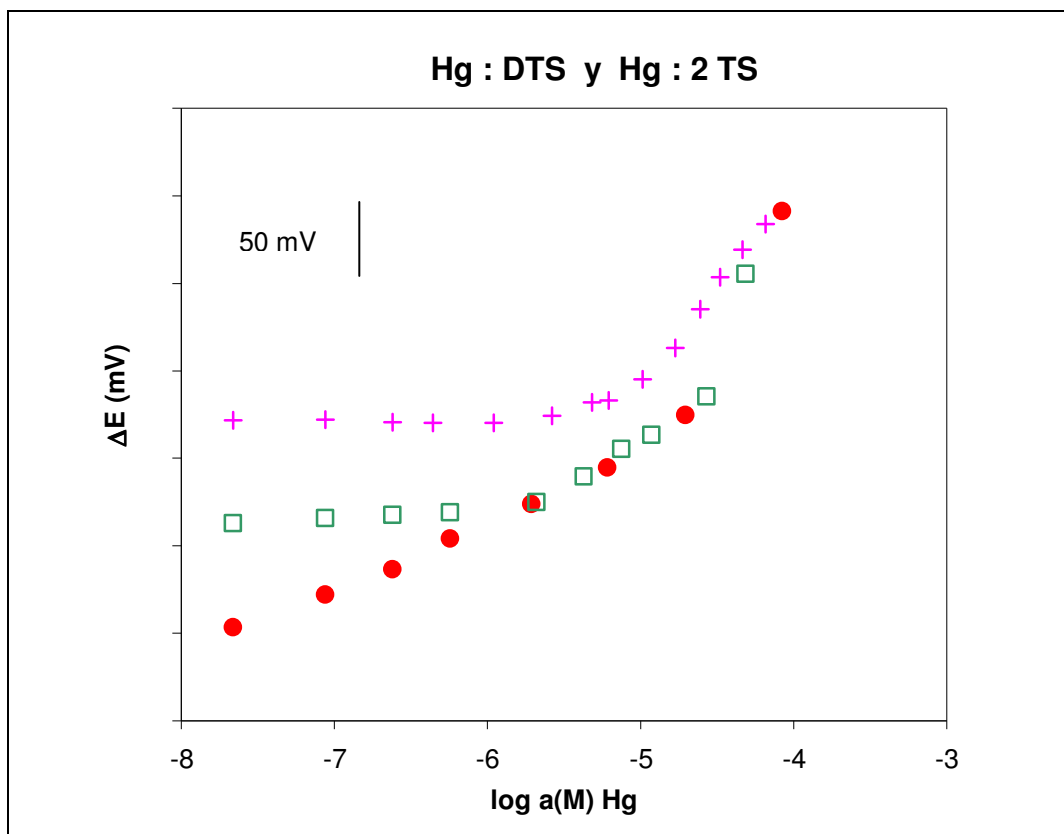
El comportamiento del sensor modificado con el sólido obtenido en la mezcla 1:1 de mercurio y ligando DTS es similar al del sensor modificado con el ligando DTS para actividades de mercurio comprendidas entre  $10^{-5.7}$  M y  $10^{-4.6}$  M. En este intervalo, los sensores potenciométricos presentan pendientes de 42.9 y 53.2 mV / década de actividad para



los sensores modificados con el ligando DTS y el sólido obtenido en la mezcla 1:1 de mercurio y ligando DTS, respectivamente. En cambio el sensor modificado con el precipitado obtenido de la mezcla de proporción 1:2 mercurio:ligando, presenta un comportamiento totalmente distinto. La respuesta potenciométrica de este sensor comienza para actividades superiores a  $10^{-5.0}$  M, obteniendo por lo tanto sólo un orden de magnitud donde el sensor potenciométrico presenta respuesta lineal con el logaritmo de la actividad de los iones mercurio (II). Además, en ese intervalo de actividades ( $10^{-5.0}$  M a  $10^{-4.0}$  M) el sensor modificado con el sólido obtenido en la mezcla de disoluciones de mercurio:ligando TS en proporción 1:2, presenta una variación de la respuesta potenciométrica de 115.3 mV / década de actividad. El diferente comportamiento que presentan los sensores modificados con los sólidos obtenidos de las mezclas mercurio:TS (1:2) y mercurio:DTS (1:1), parecen indicar que en la posible formación del complejo entre los iones mercurio (II) y el ligando DTS no se produce la ruptura de la molécula del ligando por el enlace S-S para obtener dos moléculas del ligando TS.

Los resultados obtenidos hasta el momento en los estudios realizados sobre la formación del complejo entre el mercurio y el ligando DTS, parecen indicar que no se produce la ruptura de la molécula del ligando antes de enlazar con los iones mercurio (II). En principio podría pensarse entonces en la formación del complejo de estequiometría 1:1 entre estas dos especies, tanto en disolución como en la superficie del sensor.

Por otro lado, el ligando TS puede formar con el mercurio complejos de estequiometría 1:1 y 1:2 (metal:ligando), pero en la superficie del sensor, teniendo en cuenta las dificultades estéricas que encuentran las dos especies para formar el enlace, se supone que tiene lugar la formación del complejo de estequiometría 1:1. En este caso, como se ha comentado anteriormente, los resultados obtenidos en los estudios de microscopía electrónica muestran la formación incompleta de este complejo.



**Figura 32.** Respuesta potenciométrica de los sensores modificados con 24.1 % DTS (●), 24.1 % del sólido obtenido de la mezcla mercurio:DTS 1:1 (□) y 24.1 % del sólido obtenido de la mezcla mercurio:TS 1:2 (+) en función del logaritmo de la actividad del  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  a pH 4.8 utilizando como electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0.1 M

#### IV. 2.3. Cálculo de las constantes de formación de los complejos en la superficie de los sensores. Cinética de las reacciones.

Cuando los sensores potenciométricos modificados con pasta de carbón de los ligandos DTS y TS entran en contacto con una disolución que contiene iones cobre (II), mercurio (II) o plomo (II), se forman en la superficie del sensor los correspondientes complejos entre estos cationes metálicos y el ligando modificador de la pasta de carbón. El objetivo de este apartado es la estimación de las constantes condicionales de formación de estos complejos en la superficie de los sensores utilizando un método basado en voltamperometría de redisolución anódica. Además, también se estiman los valores de las constantes cinéticas de formación de estos complejos.

Entre los procedimientos existentes para el cálculo de las constantes de formación de los complejos entre metales y ligandos en la superficie de electrodos se encuentra el propuesto por Kalcher y col. [156]. Este método se ha empleado en nuestro laboratorio, con resultados satisfactorios, para el cálculo de las constantes de formación de complejos en la superficie de electrodos de pasta de carbón modificada [95, 96]. El experimento que se lleva a cabo consiste en la preconcentración de la especie metálica en la superficie del electrodo y posterior medida de la cantidad de metal acumulado en dicha superficie mediante técnicas voltamperométricas.

Para utilizar este procedimiento primero debe suponerse la estequiometría del complejo que va a formarse. Teniendo en cuenta la disposición de las moléculas de ligando en la superficie del sensor, las consiguientes dificultades estéricas en la reacción química entre ligando y el metal en la superficie del sensor, las posibilidades de coordinación del ligando y los resultados obtenidos en los análisis mediante SEM-EDAX, podemos suponer en todos los casos que la estequiometría de la reacción es 1:1. En ese caso el proceso de acumulación puede describirse como:



Donde los subíndices *S* y *E* simbolizan el seno de la disolución y la superficie del sensor, respectivamente. La constante condicional de equilibrio de la reacción  $K'_{eq}$  será:

$$K'_{eq} = \frac{[ML]_{E,eq}}{[M]_{S,eq}[L]_{E,eq}} \quad (12)$$

El subíndice *eq* indica condiciones de equilibrio.

Aunque debería utilizarse la actividad de las especies en vez de su concentración ya que estamos calculando constantes termodinámicas, hay que tener en cuenta que trabajando en disolución con fuerza iónica constante, como es el caso, los coeficientes de actividad se consideran constantes, por lo que pueden emplearse las concentraciones de las especies.

Además, como la concentración de la correspondiente especie metálica retenida en la superficie del sensor es muy pequeña, puede suponerse que no hay variación en la concentración de dicha especie en el seno de la disolución por tanto la expresión de la constante condicional en el equilibrio queda:

$$K'_{eq} = \frac{[ML]_{E,eq}}{[M]_S [L]_{E,eq}} \quad (13)$$

La concentración de la especie metálica en la superficie del sensor, expresada como moles por unidad de área, es directamente proporcional a la intensidad de pico ( $I_p$ ) registrada en la medida voltamperométrica:

$$[ML]_{E,eq} = [M]_{E,eq} = f_{i \rightarrow C} I_p \quad (14)$$

$f_{i \rightarrow C}$  define la conversión de la intensidad de pico medida en la concentración de especie electroactiva en la superficie.

La concentración de modificador libre en la superficie del sensor  $[L]_{E,eq}$  se calcula a partir de la concentración máxima  $[L]_{E, max}$  obtenida electroquímicamente como  $I_{p, max}$  por saturación de los grupos funcionales, y de la concentración de metal en la superficie del sensor  $[M]_{E,eq}$

$$[L]_{E,eq} = [L]_{E, max} - [M]_{E,eq} = f_{i \rightarrow C} (I_{p, max} - I_p) \quad (15)$$

Sustituyendo, se obtiene:

$$K'_{eq} = \frac{[ML]_{E,eq}}{[M]_S [L]_{E,eq}} = \frac{1}{[M]_S} \frac{I_{p,eq}}{(I_{p, max} - I_p)} \quad (16)$$

y reorganizando términos:

$$\frac{1}{[M]_S} = \frac{K'_{eq} I_{p,max}}{I_{p,eq}} - K'_{eq} \quad (17)$$

Por tanto, la representación gráfica de  $1/[M]_S$  *versus*  $1/I_{p,eq}$  debería proporcionar una línea recta cuya ordenada en el origen sería  $-K'_{eq}$  y la intersección con el eje de abscisas  $1/I_{p,max}$

Para elegir correctamente el tiempo de acumulación necesario para que se alcance el equilibrio en la formación del complejo entre el ligando y el metal correspondiente en la superficie del sensor debe realizarse el estudio cinético de la variación de la intensidad de pico en función del tiempo de acumulación. La ecuación cinética de la reacción que tiene lugar en la superficie del sensor puede expresarse por:

$$\frac{d [ML]_E}{d t_{ac}} = k_v [M]_S [L]_{E,ef} \quad (18)$$

Donde  $t_{ac}$  es el tiempo de preconcentración,  $k_v$  es la constante de velocidad del proceso de acumulación y  $[L]_{E,ef}$  es la concentración efectiva de los grupos funcionales en la superficie disponibles para la preconcentración, que puede expresarse como:

$$[L]_{E,ef} = [ML]_{E,eq} - [ML]_E \quad (19)$$

Combinando las ecuaciones (18) y (19) con la concentración en la superficie expresada en términos de intensidades de corriente, ecuación (14), se obtiene el comportamiento cinético en el sensor durante el proceso de acumulación, expresado en términos de intensidad de corriente:

$$\frac{d I_{p,t}}{d t_{ac}} = k_v [M]_S (I_{p,eq} - I_{p,t}) \quad (20)$$

$I_{p,t}$  es la intensidad de pico voltamétrica obtenida tras un cierto tiempo de preconcentración.

Aunque es una reacción heterogénea, la expresión cinética obtenida se considera válida, ya que la concentración de metal en la disolución  $[M]_S$ , permanece constante cuando se realiza una serie de medidas variando en ellas el tiempo de acumulación. Integrando la expresión anterior se obtiene:

$$I_{p,t} = I_{p,eq} \left(1 - e^{-k_v [M]_S t_{ac}}\right) \quad (21)$$

La representación de  $I_{p,t}$  versus  $t_{ac}$  debe dar una curva exponencial con  $I_{p,t}$  tendiendo a  $I_{p,eq}$  para tiempos de acumulación largos. Para tiempos de acumulación cortos se obtiene un comportamiento casi lineal, ya que  $e^x$  puede aproximarse a  $1+x$ .

### IV. 2.3.1. Comportamiento voltamperométrico de los complejos en la superficie de los sensores.

Para llevar a cabo la determinación de la constante de formación en la superficie del electrodo, en primer lugar se preconcentra el correspondiente catión metálico sobre la superficie del sensor en las condiciones de medida potenciométrica, a circuito abierto y después se determina mediante voltamperometría cíclica la cantidad de metal acumulada en dicha superficie introduciendo el sensor en una disolución de HCl 0.1 M.

La Figura 33 muestra los voltamperogramas obtenidos aplicando el proceso de acumulación en una disolución de **cobre (II)** de concentración  $7.00 \times 10^{-5}$  M, y posterior medida voltamperométrica empleando los sensores de pasta modificados con un 24.1 % de los ligandos DTS y TS. El pico anódico que corresponde a la reoxidación del cobre (0), aparece a -0.080 V en el sensor DTS y a 0.020 V en el sensor TS.

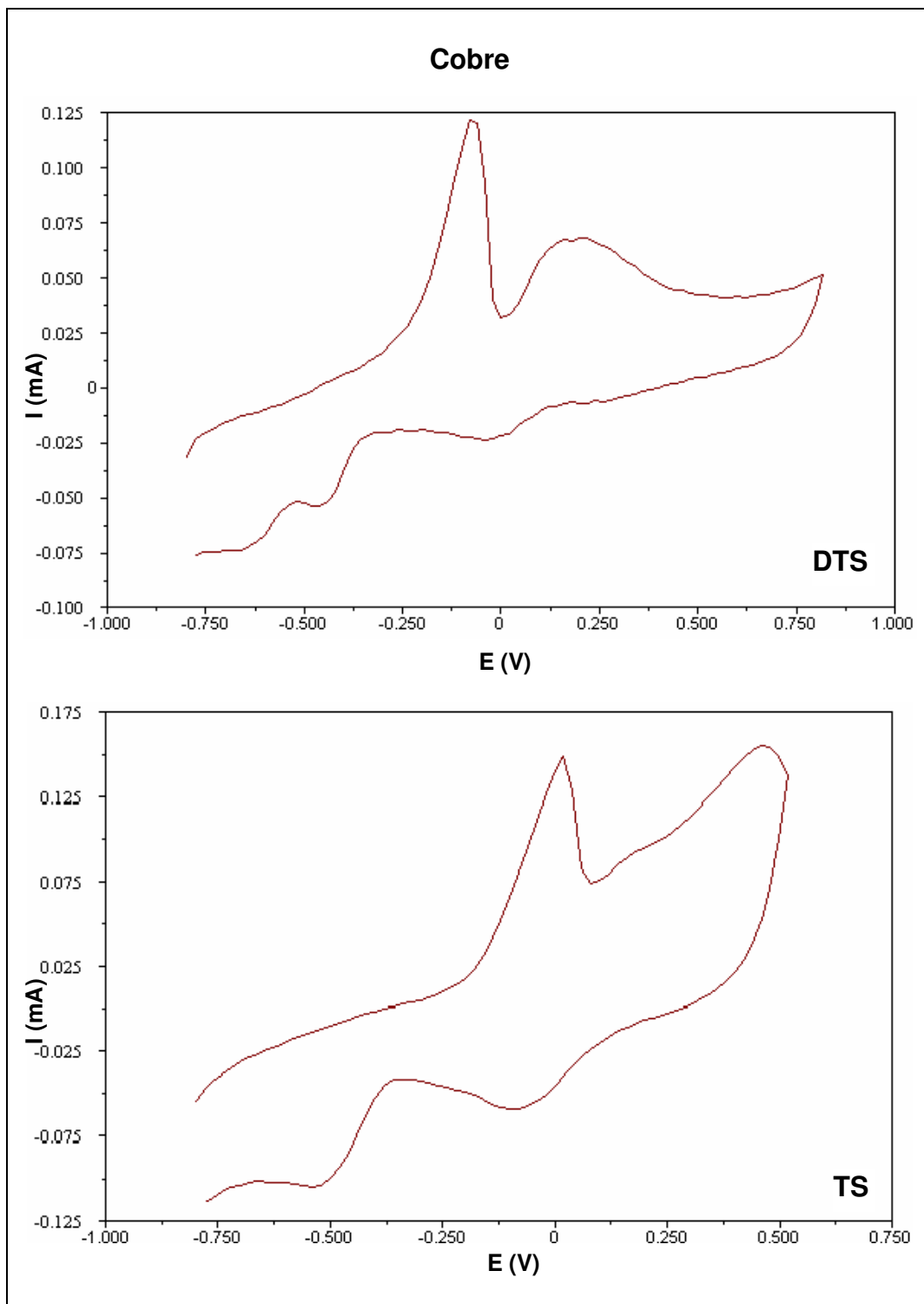
La estimación de las constantes de formación con los iones **plomo (II)** se lleva a cabo realizando la etapa de acumulación a pH 6.0 (PIPES 0.01 M) y pH 4.2 (HAc/NaAc 0.01 M), en presencia de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M como electrolito soporte. Las Figuras 34 y 35 muestran los voltamperogramas obtenidos tras realizar la acumulación y reducción de estos cationes en la

superficie de ambos sensores, cuando se utilizan disoluciones de plomo de pH 6.0 y 4.2 respectivamente.

La reoxidación del plomo en el sensor DTS cuando la acumulación se lleva a cabo en una disolución de concentración  $9.00 \times 10^{-5}$  M a pH 6.0 se produce a un valor del potencial de -0.420 V, mientras que si la acumulación se realiza a pH 4.2 el pico de reoxidación aparece a -0.520 V. Para el sensor TS, la reoxidación del plomo se produce a -0.240 V cuando la acumulación se realiza a pH 6.0 en una disolución de concentración  $9.00 \times 10^{-5}$  M, y a -0.280 V cuando se realiza a pH 4.2 en una disolución  $7.00 \times 10^{-4}$  M.

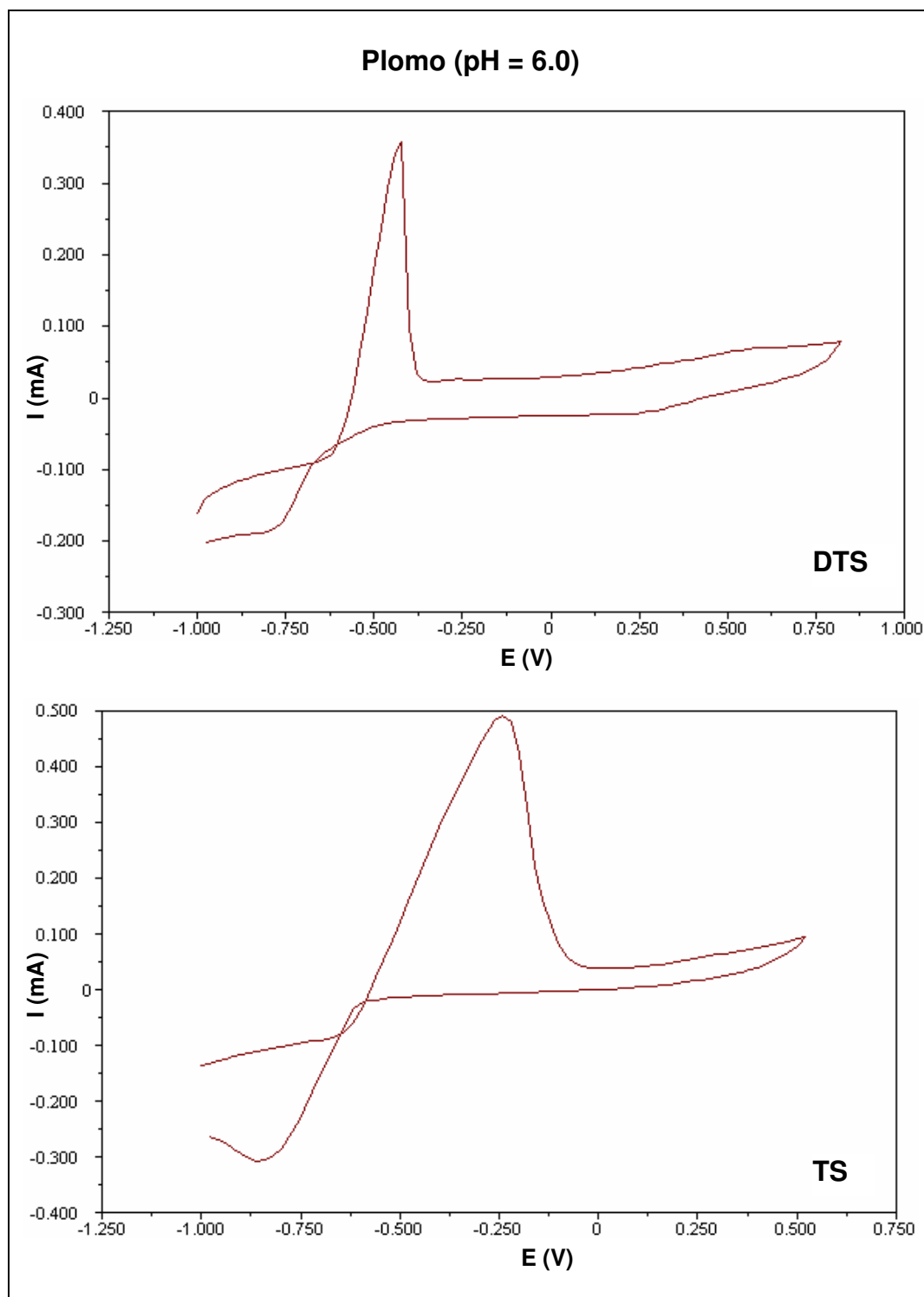
Las mayores intensidades de corriente obtenidas por los iones plomo (II) cuando la acumulación se realiza a pH 6.0, se pueden justificar teniendo en cuenta las características ácido-base de los ligandos. Como se ha comentado en la introducción, los iones plomo (II) enlazan con los ligandos a través del grupo  $-\text{COOH}$  y el grupo  $-\text{SH}$  para formar los complejos. A un valor de pH 4.2 no todas las moléculas de los ligandos se encuentran desprotonadas, por lo que se establece una competencia entre los protones y los iones plomo (II) por las posiciones de coordinación del ligando. En cambio, si la acumulación se realiza a pH 6.0 el ligando TS ha perdido el protón del grupo  $-\text{COOH}$ , mientras que la desprotonación es total para el ligando DTS, disminuyendo así, la competencia establecida entre ambos cationes.

El estudio de la constante de formación del complejo formado por los iones **mercurio (II)** en la superficie de los sensores modificados con los ligandos DTS y TS se realiza en disoluciones preparadas en las mismas condiciones que las utilizadas en la determinación potenciométrica de estos cationes ( $\text{NaNO}_3$  0.1 M y  $\text{HAc/NaAc}$  0.01 M (pH 4.8)). En la Figura 36 se muestran los voltamperogramas obtenidos cuando el proceso de acumulación se realiza en una disolución de concentración  $1.10 \times 10^{-5}$  M. En ambos casos se observan picos de reoxidación de mercurio sobre ambos sensores que aparecen a potenciales próximos a 0.180 V para el sensor DTS y 0.219 V para el TS.

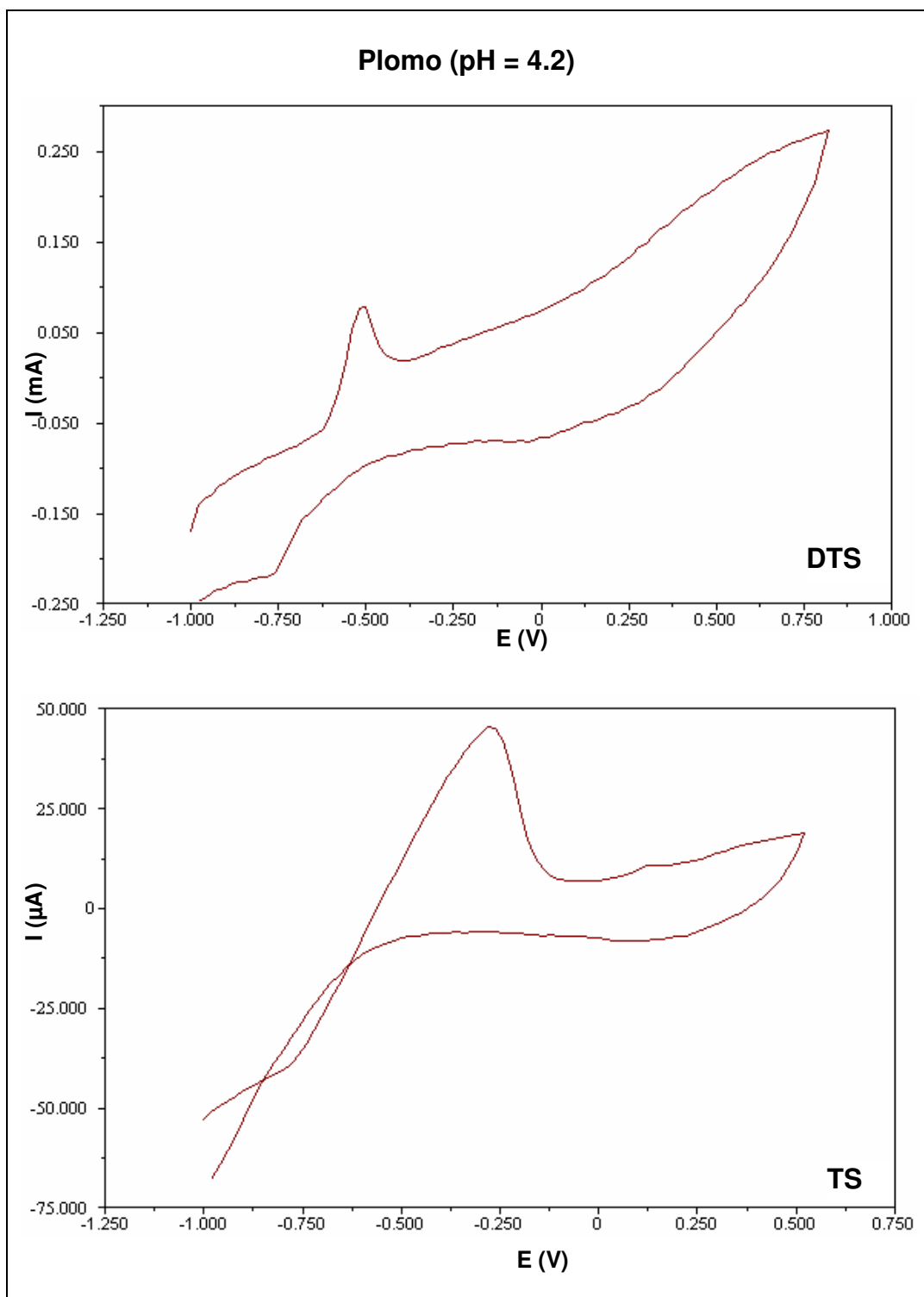


**Figura 33.** Voltamperogramas de los sensores modificados con un 24.1 % del ligando DTS y TS obtenidos en HCl 0.1 M tras realizar la preconcentración de los iones cobre (II) en una disolución de concentración  $7.00 \times 10^{-5}$  M en  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0) durante 10 minutos con agitación de 1000 rpm.

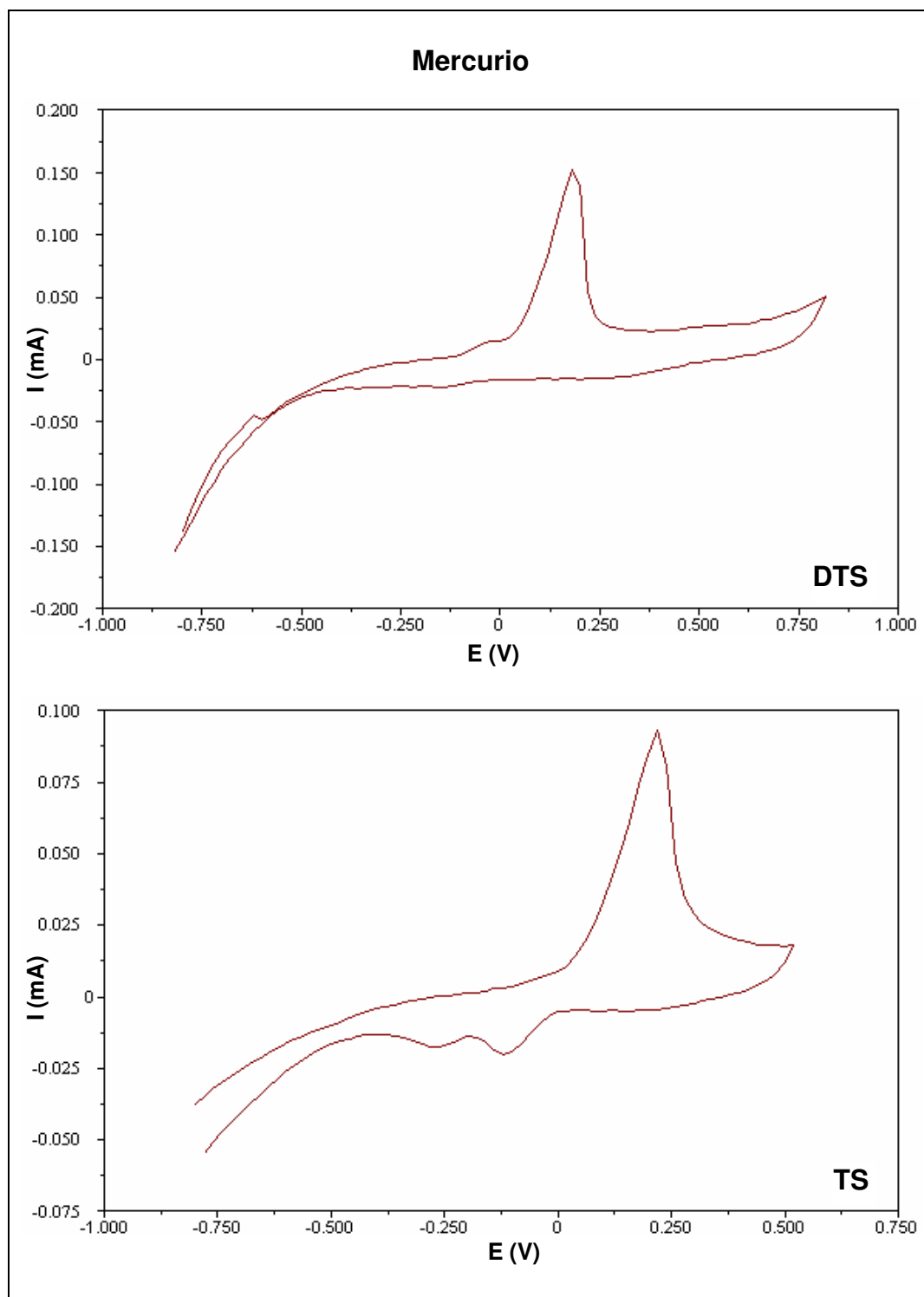




**Figura 34.** Voltamperogramas de los sensores modificados con un 24.1 % del ligando DTS y TS obtenidos en HCl 0.1 M tras realizar la preconcentración de los iones plomo (II) en una disolución de concentración  $9.00 \times 10^{-5}$  M en  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0) durante 10 minutos con agitación de 1000 rpm.



**Figura 35.** Voltamperogramas de los sensores modificados con un 24.1 % del ligando DTS y TS obtenidos en HCl 0.1 M tras realizar la preconcentración de los iones plomo (II) en una disolución de concentración  $9.00 \times 10^{-5}$  M en el sensor DTS y  $7.00 \times 10^{-5}$  M el TS en  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.2) durante 10 minutos con agitación de 1000 rpm.



**Figura 36.** Voltamperogramas de los sensores modificados con un 24.1 % del ligando DTS y TS obtenidos en HCl 0.1 M tras realizar la preconcentración de los iones mercurio (II) en una disolución de concentración  $1.10 \times 10^{-5}$  M en  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.8) durante 10 minutos con agitación de 1000 rpm.

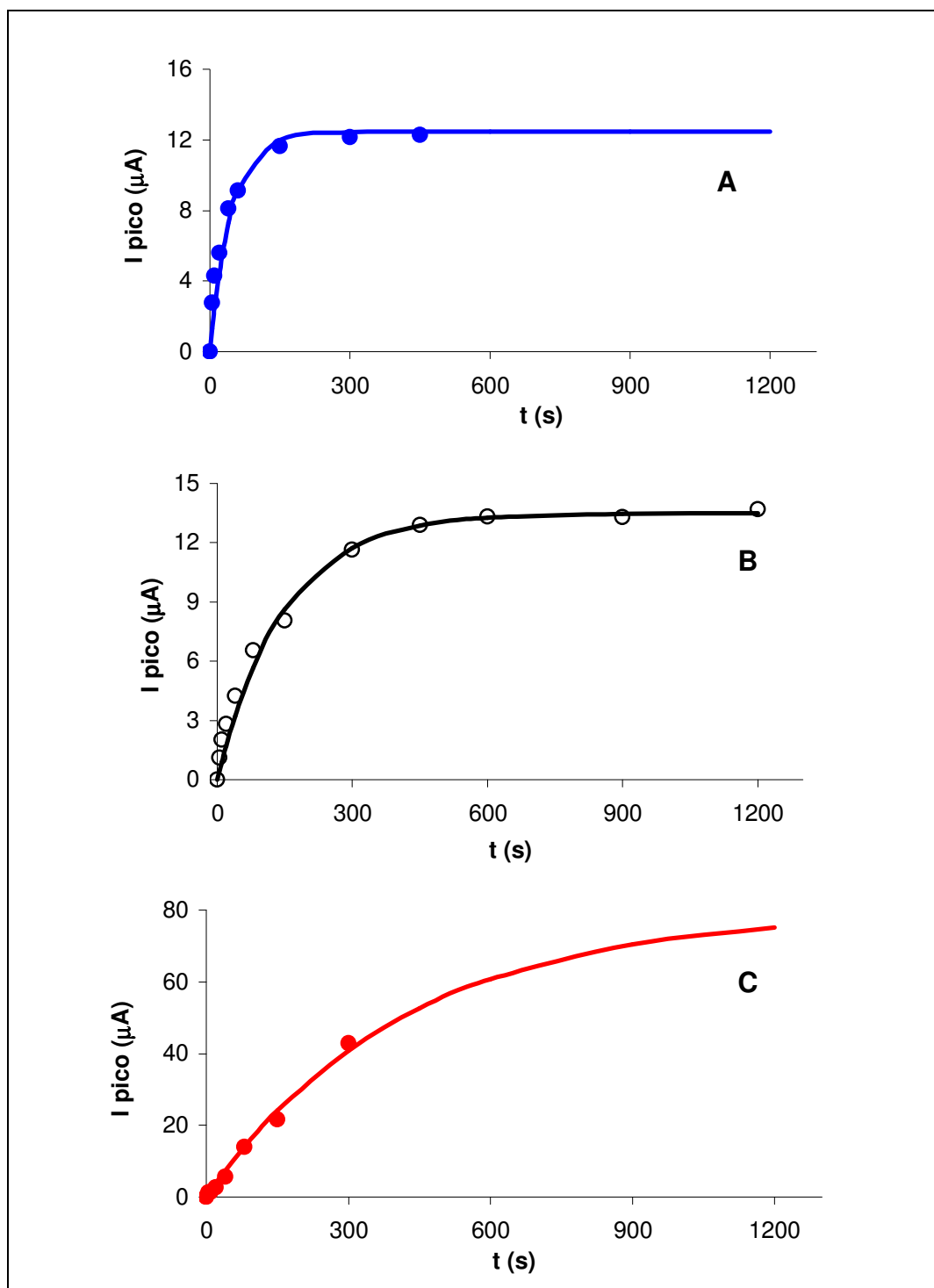
### IV. 2.3.2. Cinética de las reacciones de formación de los complejos en la superficie de los sensores.

Aplicando el método voltamperométrico antes descrito, en primer lugar se determina la dependencia de la intensidad del pico voltamétrico obtenido para cada uno de los metales en función del tiempo de acumulación. Este estudio permite establecer el tiempo de acumulación mínimo necesario para alcanzar el equilibrio de complejación en la superficie del sensor y estudiar la cinética del proceso de acumulación.

Para ajustar las curvas cinéticas de los sensores investigados, se estiman los valores de  $I_{p,eq}$  (intensidad de pico en el equilibrio) y de  $k_v$  (constante de velocidad del proceso de acumulación) mediante el programa informático Excel de Microsoft Office. El cálculo se lleva a cabo utilizando la herramienta *Solver* de la hoja de cálculo. La estimación de  $I_{p,eq}$  y de  $k_v$  se realiza mediante iteración de los valores de estos parámetros de tal forma que se minimice la suma de los cuadrados de las diferencias de las intensidades de pico ( $I_{p,t}$ ) experimentales y teóricas obtenidas mediante la ecuación (21), para una determinada concentración de metal ( $[M]_S$ ) y tiempo de acumulación ( $t_{ac}$ ).

Las Figuras 37 y 38 muestran los datos experimentales y las curvas cinéticas ajustadas, para la acumulación de los iones cobre (II), plomo (II) y mercurio (II) en los sensores modificados con un 24.1 % de ligando DTS y TS, respectivamente. En todos los casos, los datos experimentales se ajustan a las curvas cinéticas estimadas.

En la Tabla 17 se muestran los valores estimados de la intensidad de pico en el equilibrio ( $I_{p,eq}$ ) y la constante de velocidad del proceso de acumulación ( $K_v$ ).

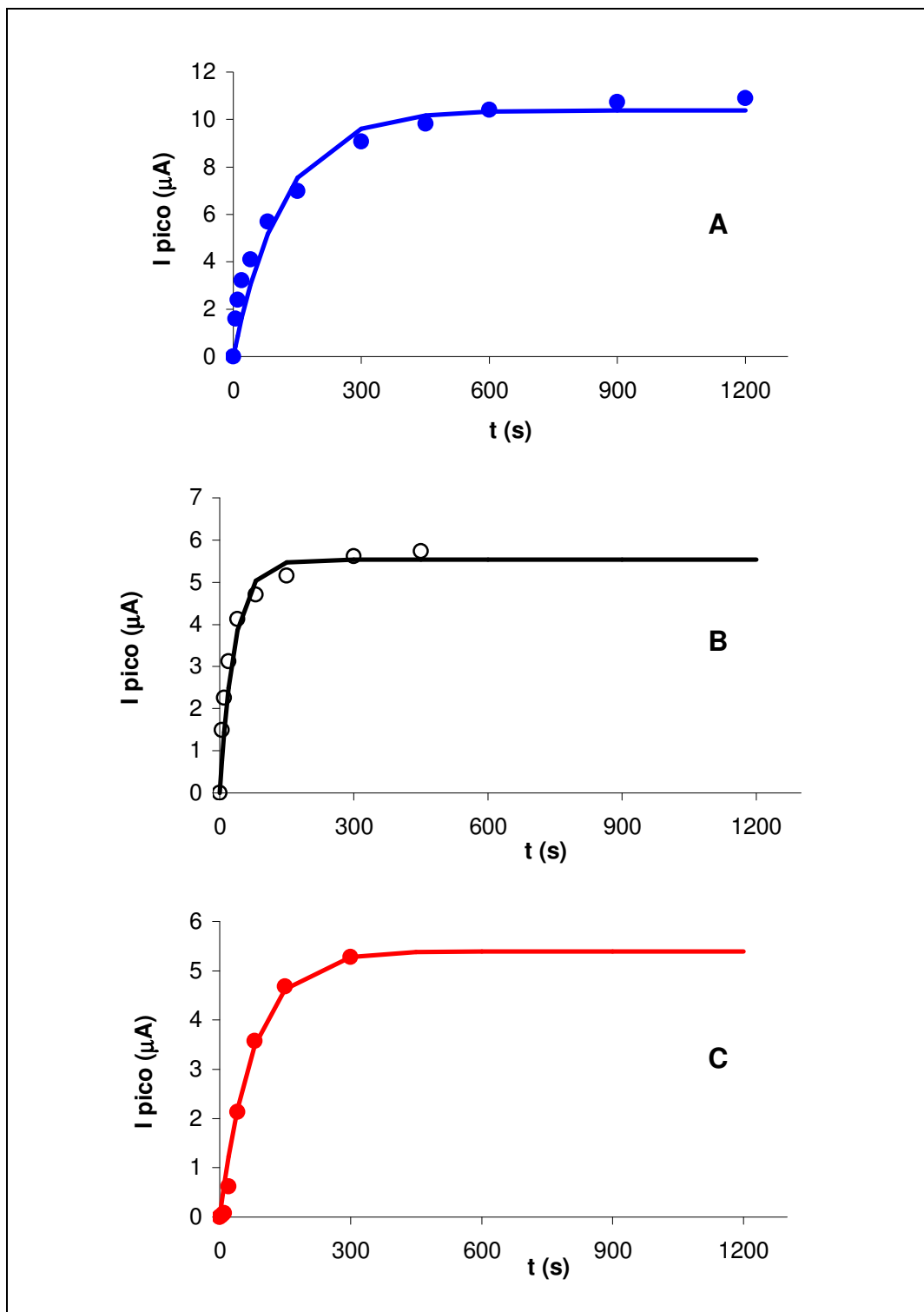


**Figura 37.** Dependencia de la intensidad de pico con el tiempo de preconcentración del sensor DTS. Medida en HCl 0.1 M. Preconcentración:

**A**– disolución de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $5.00 \times 10^{-5}$  M,  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0)

**B**– disolución de  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$   $5.00 \times 10^{-5}$  M,  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.2)

**C**– disolución de  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$   $5.00 \times 10^{-6}$  M,  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.8)



**Figura 38.** Dependencia de la intensidad de pico con el tiempo de preconcentración del sensor TS. Medida en HCl 0.1 M. Preconcentración:

**A**– disolución de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $5.00 \times 10^{-5}$  M,  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0)

**B**– disolución de  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$   $5.00 \times 10^{-4}$  M,  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.2)

**C**– disolución de  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-5}$  M,  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.8)

**Tabla 17.** Intensidad de pico en el equilibrio ( $I_{p,eq}$ ) y constante de velocidad del proceso de acumulación ( $k_v$ ) de los sensores de pasta de carbón modificados con un 24.1 % de los ligandos DTS y TS. Las condiciones experimentales corresponden a las de las Figuras 37 y 38.

Sensor	Cu (pH 6.0)		Pb (pH 4.2)		Hg (pH 4.8)	
	$I_{p,eq}$ ( $\mu A$ )	$k_v$	$I_{p,eq}$ ( $\mu A$ )	$k_v$	$I_{p,eq}$ ( $\mu A$ )	$k_v$
DTS	12.5	441	13.5	136	79.6	48
TS	10.4	173	5.5	60	5.4	260

Comparando las curvas cinéticas obtenidas para la acumulación de **iones cobre (II)**, a partir de disoluciones de la misma concentración de metal, en los sensores modificados con los ligando DTS y TS se observa que para el sensor modificado con el ligando DTS las intensidades de pico voltamperométricas próximas al valor calculado de la intensidad de pico en el equilibrio se alcanzan a tiempos menores. Como consecuencia, la constante cinética de acumulación del sensor DTS estimada a partir de los datos experimentales presenta un valor mayor que el obtenido para el sensor de pasta de carbón modificado con el ligando TS.

Esta diferencia de **cinética de reacción** tiene **relación con el tiempo de respuesta** de los sensores potenciométricos. El tiempo de respuesta para la medida potenciométrica de los iones cobre (II) con el sensor DTS es inferior al obtenido con el sensor modificado con el ligando TS, tal y como muestra la Tabla 5 del **apartado IV. 1.5**. Además, los menores tiempos de respuesta de los sensores modificados con los ligandos DTS y TS se obtienen para los cationes cobre (II), lo que parece estar de acuerdo con las mayores constantes cinéticas de acumulación obtenidas por estos iones con respecto a las otras dos especies metálicas ensayadas.

Para los **iones mercurio (II)**, el ajuste de las curvas cinéticas permite observar un valor más alto para la constante cinética cuando la acumulación se realiza con el sensor modificado con el ligando TS que con el sensor DTS. El resultado concuerda también con los

tiempos de respuesta obtenidos en la determinación potenciométrica de los iones mercurio (II) con ambos sensores (Tabla 5).

Los resultados obtenidos para los **iones plomo (II)** muestran que la constante cinética de acumulación del sensor modificado con el ligando DTS es superior al valor obtenido para el sensor TS. Como puede verse en la Tabla 5, en este caso, el tiempo de respuesta obtenido en la determinación potenciométrica de estos iones no concuerda con los valores de las constantes cinéticas de acumulación, ya que el sensor con una respuesta más lenta corresponde al modificado con el ligando DTS, que presenta una mayor cinética de adsorción. La diferencia puede deberse a las diferentes concentraciones de plomo utilizadas para cada medida. Aunque en principio la constante de velocidad del proceso de acumulación ( $K_v$ ) es independiente de la concentración, no es del todo correcto en esta metodología.

### IV. 2.3.3. Constantes condicionales de formación de los complejos en la superficie de los sensores

Con las intensidades de pico de cada uno de los voltagramas obtenidos en las condiciones experimentales mencionadas, podemos determinar las constantes de formación en la superficie de los sensores de los complejos formados entre el ión metálico de la disolución y el ligando modificador de la pasta de carbón del sensor. El método empleado para realizar este cálculo es el propuesto por Kalcher, detallado anteriormente. Se considera que en todos los casos el complejo que se forma entre los cationes metálicos y el ligando modificador del sensor presenta una estequiometría 1:1. Esta estequiometría corresponde con los resultados obtenidos en los estudios previos realizados para los iones cobre (II) y plomo (II), y aunque no se ha podido determinar con seguridad en el caso del mercurio (II), es el que se supone que se formará con mayor probabilidad.

La duración de la etapa de preconcentración se elige en función de las curvas cinéticas. Para poder comparar las constantes obtenidas para las distintas especies metálicas y para cada ligando modificador, se elige el mismo tiempo de acumulación, independientemente de la especie metálica, de la concentración de esta en la disolución y del correspondiente ligando



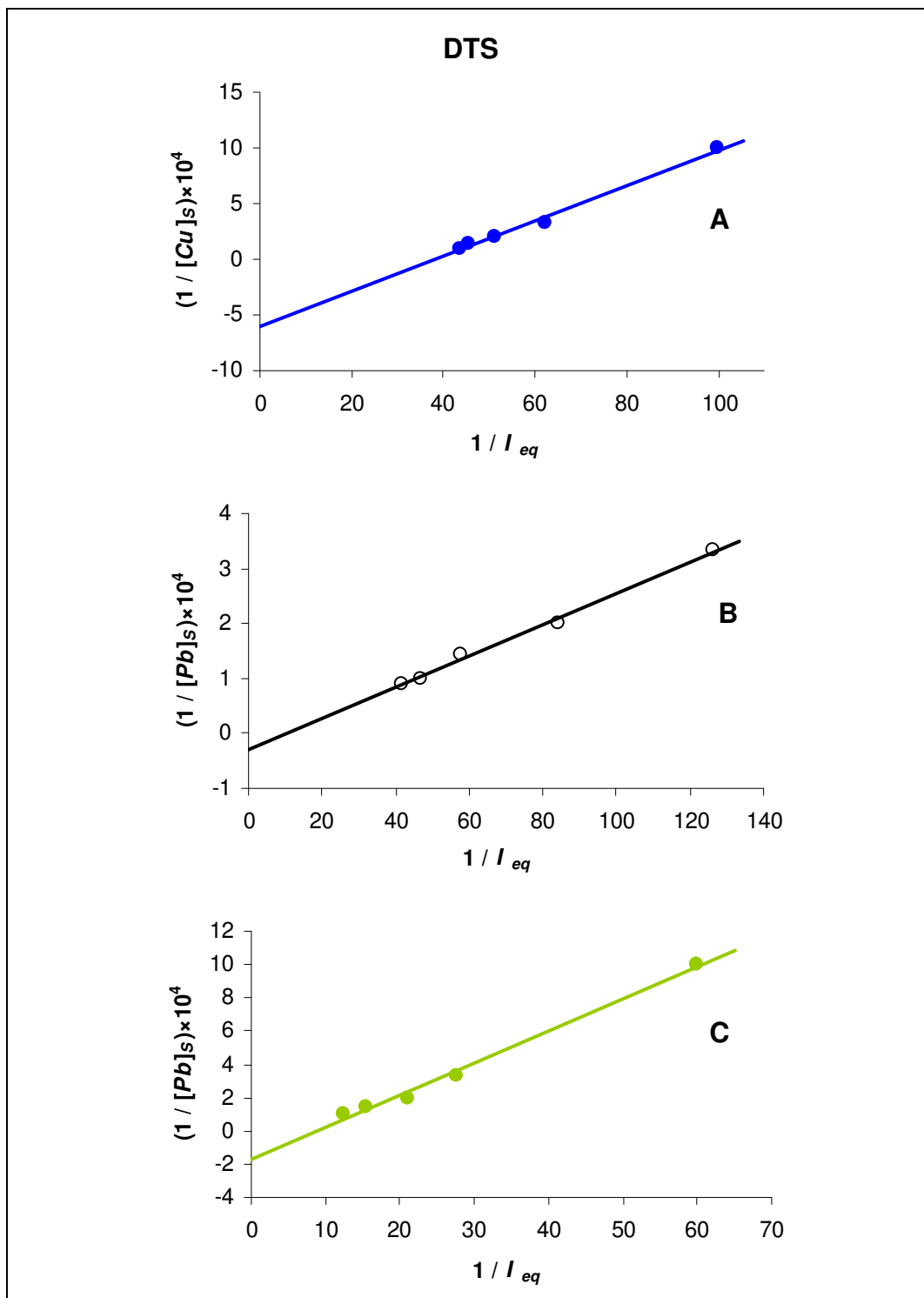
modificador del sensor, de cada uno de los experimentos. El tiempo de acumulación seleccionado es de 10 minutos (600 s) tiempo al cual para todos los sensores y para todas las especies metálicas ensayadas, el valor de la intensidad de pico corresponde a la intensidad de pico en el equilibrio.

Según la ecuación (17), de la representación de  $1/[M]_S$  versus  $1/I_{p,eq}$  para cada caso debería obtenerse una línea recta, cuya ordenada en el origen correspondería al valor cambiado de signo de la constante de formación condicional de dicho complejo ( $-K'_{eq}$ ) y de la intersección con el eje de abcisas el valor inverso de la intensidad de pico máxima ( $1/I_{p,max}$ ).

En la Figuras 39 se muestran las representaciones obtenidas, con las intensidades de pico de los voltamperogramas realizados con el sensor DTS y los iones cobre (II), mercurio (II) y plomo (II). En el caso del mercurio (II) no es posible obtener el valor de la constante de formación del complejo en la superficie del sensor entre estos iones y el ligando DTS. A pesar de obtener una línea recta en la representación de  $1/[Hg]_S$  frente  $1/I_{p,eq}$ , la ordenada en el origen de esta recta es un número positivo, lo que indica que en este caso el valor de la constante es negativo. Este comportamiento parece indicar que en las condiciones de medida es imposible alcanzar el equilibrio para todas las concentraciones de mercurio ensayadas.

En el caso de los iones plomo (II) los valores de las constantes de formación condicionales de los complejos formados por los modificadores de los sensores y estos cationes metálicos son superiores cuando la etapa de preconcentración se lleva a cabo a pH 6.0. Este resultado puede justificarse debido a las propiedades ácido-base de los ligandos. Cuando menor es el pH de la disolución en la que se produce la acumulación en la superficie del sensor, mayor es la competencia existente entre los iones metálicos y los protones por enlazar con el ligando.

Las Figuras 40 y 41 representan los ajustes obtenidos al aplicar el método de Kalcher con los sensores TS y los iones cobre (II), mercurio (II) y plomo (II).



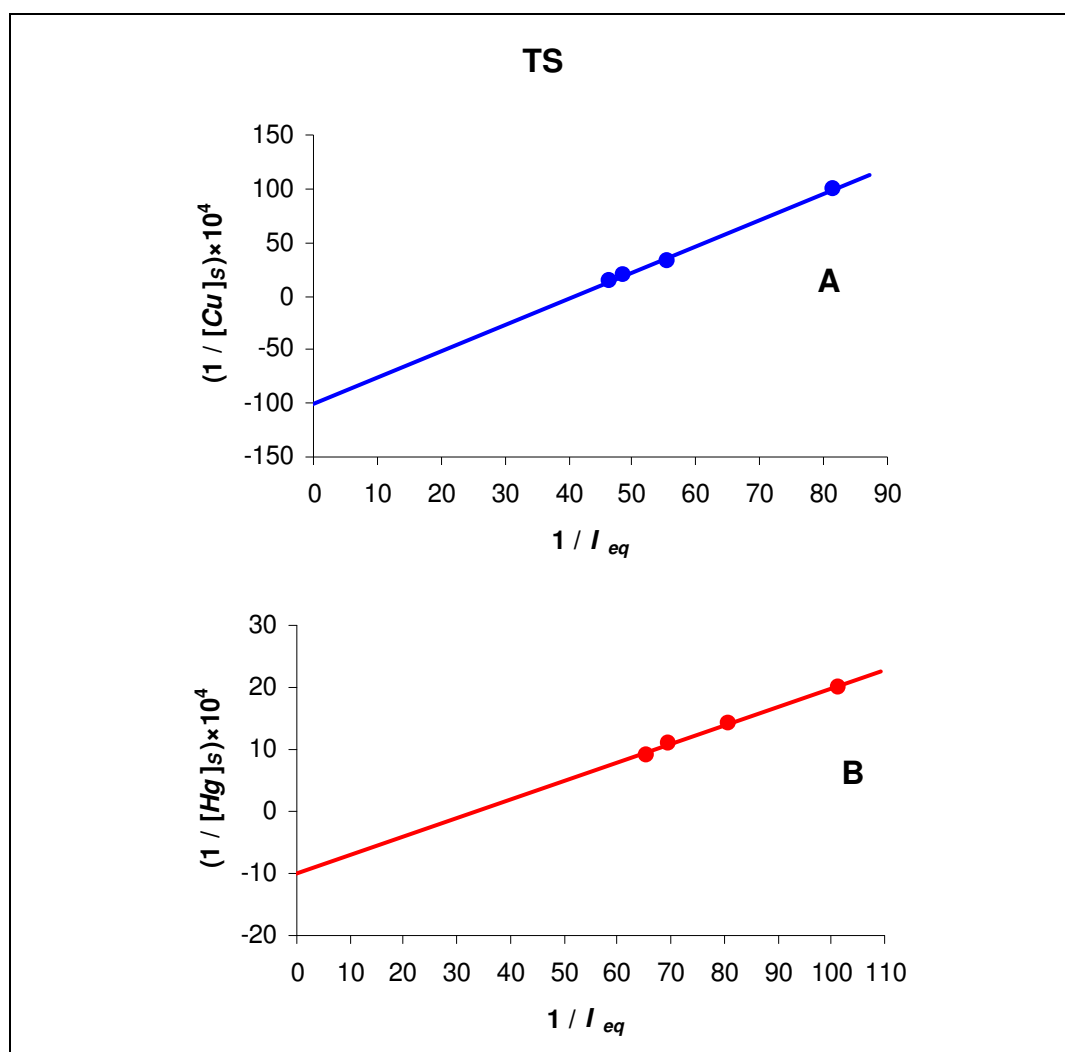
**Figura 39.** Representación de la intensidad de pico del sensor DTS en función de la concentración de metal de la disolución donde se realiza la acumulación.

**A**–  $Cu(NO_3)_2$  en  $NaNO_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0).

**B**–  $Pb(NO_3)_2$  en  $NaNO_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.2)

**C**–  $Pb(NO_3)_2$  en  $NaNO_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0).

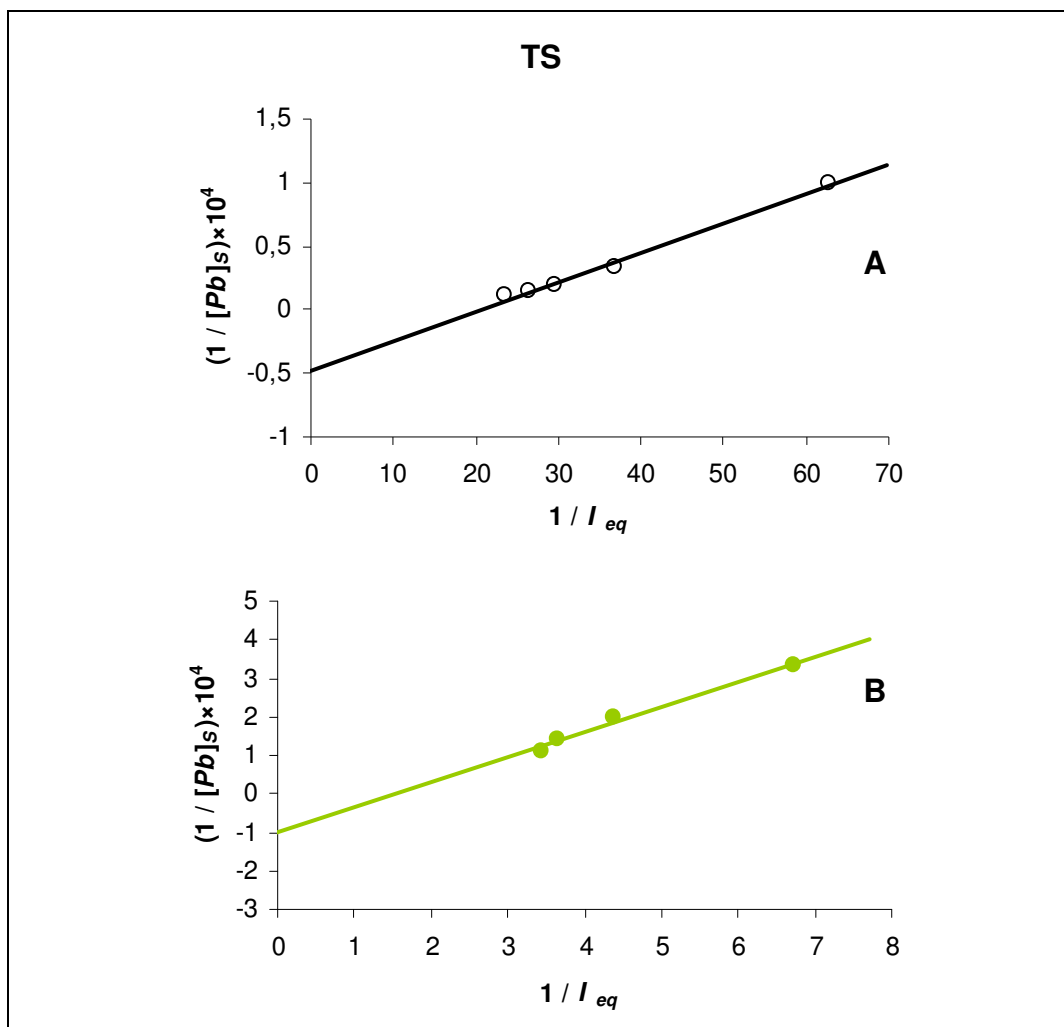
Los valores de las constantes de formación y las intensidades de pico máximas obtenidas se muestran en la Tabla 18. Para el mismo metal, prácticamente en todos los casos, la constante de formación del complejo formado con el ligando modificador TS es superior a la del ligando DTS. Además, los valores de las constantes de los complejos formados con los iones cobre (II) son los más altos, mientras que los de los iones plomo (II) son los más bajos.



**Figura 40.** Representación de la intensidad de pico del sensor TS en función de la concentración de metal de la disolución donde se realiza la acumulación.

**A**–  $Cu(NO_3)_2$  en  $NaNO_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0).

**B**–  $Hg(NO_3)_2$  en  $NaNO_3$  0.1 M y HAc/NaAc 0.01 M (pH 4.8).



**Figura 41.** Representación de la intensidad de pico del sensor TS en función de la concentración de metal de la disolución donde se realiza la acumulación.

**A–**  $Pb(NO_3)_2$  en  $NaNO_3$  0.1 M y  $HAc/NaAc$  0.01 M (pH 4.2)

**B–**  $Pb(NO_3)_2$  en  $NaNO_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0.)

Las constantes de formación obtenidas se comparan con los resultados encontrados en la bibliografía. Abu-Bakr [121] calcula la constante de formación del complejo de estequiometría 1:1 entre el cobre y el ligando TS, en medio hidroalcohólico obteniendo una constante de  $\log K = 11.02$ . Por otro lado Anjaneyulu y col. [118] obtienen una constante de  $\log K = 15.98$  para el complejo de estequiometría 1:1 formado entre los iones mercurio y el ligando TS en disoluciones que contienen un 70 % de etanol.

Los valores de las constantes de formación de los complejos obtenidos en este estudio son inferiores a los encontrados en la bibliografía. La diferencia se debe a que en este caso las

constantes de formación se han calculado en la superficie del electrodo, mientras que los otros resultados corresponden a estudios realizados en disolución en medio hidroalcohólico.

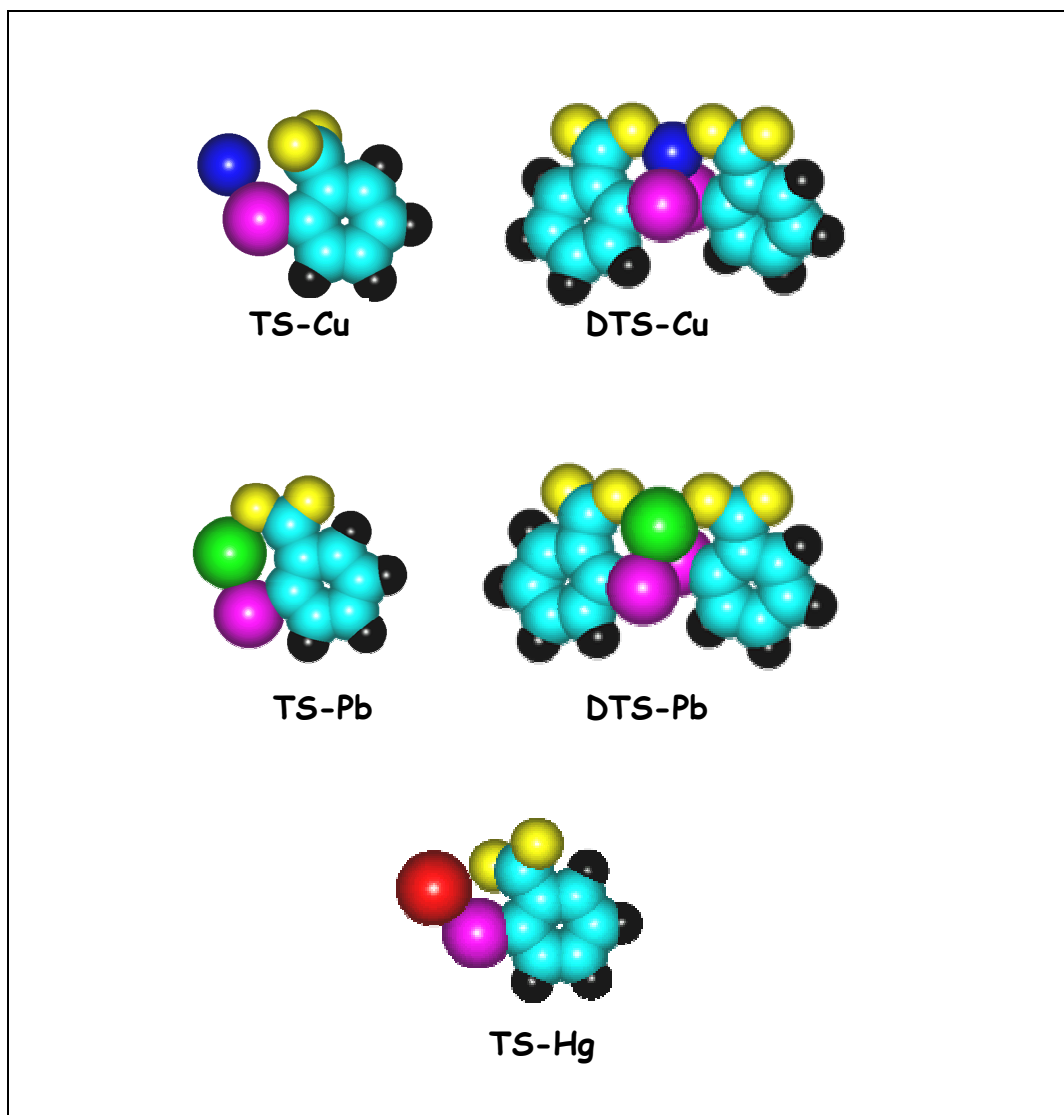
**Tabla 18.** Intensidades de pico máximas ( $I_{p,max}$ ) y constantes condicionales de formación ( $\log K'_{eq}$ ) de los complejos formados en la superficie de los sensores entre los cationes metálicos y los ligandos modificadores de la pasta de carbón obtenidas aplicando el método de Kalcher.

Sensor	COBRE (II) pH 6.0		MERCURIO (II) pH 4.8		PLOMO (II) pH 4.2      pH 6.0			
	$I_{p,max}$ (mA)	$\log K'_{eq}$	$I_{p,max}$ (mA)	$\log K'_{eq}$	$I_{p,max}$ (mA)	$\log K'_{eq}$	$I_{p,max}$ (mA)	$\log K'_{eq}$
DTS	38.2	4.79	--	--	10.3	3.47	8.86	4.23
TS	41.0	6.00	33.4	4.99	20.4	3.67	1.51	3.99

#### IV. 2.4. Posibles estructuras de los complejos formados en la superficie de los sensores.

Por medio del paquete informático sobre modelización de moléculas Hyperchem (versión 4), se puede simular la estructura de los complejos formados en la superficie de los sensores. Para realizar la simulación tendremos en cuenta las características estructurales vistas hasta ahora. En todos los casos supondremos que el complejo formado es de estequiometría 1:1. Además, dependiendo del catión metálico y de acuerdo con la información bibliográfica disponible sabemos que en la formación del enlace entre el ligando y el metal participan uno o los dos grupos funcionales de las moléculas del ligando.

Los complejos formados entre el ligando TS y el mercurio (II) y cobre (II), la coordinación tiene lugar a través de los átomos de azufre de la molécula del ligando. En cambio para el plomo (II) la formación del enlace entre este metal y el ligando TS se produce a través de los átomos de azufre y en menor medida, del oxígeno del grupo carboxílico del ligando.



**Figura 42.** Estructuras de los complejos que se forman en la superficie de los sensores (●-plomo, ●-mercurio, ●-cobre, ●-carbono, ●-hidrógeno, ●-oxígeno, ●-azufre).

En los complejos formados con los cationes cobre (II) y plomo (II) y el ligando DTS no se produce la ruptura del enlace S-S, por tanto, la coordinación se produce a través de los átomos de azufre y de los grupos carboxílicos de la molécula de ligando. En el caso del mercurio no podemos asegurar que se produzca la formación del complejo de estequiometría 1:1 con este ligando. Según parecen indicar los datos obtenidos hasta el momento, tampoco se produce la ruptura del enlace S-S. Por otra parte, resulta poco probable que sean dos átomos de mercurio los que formen el complejo con una molécula de este ligando, teniendo en cuenta que la formación de este complejo se produce en la superficie del sensor. Por tanto, aunque no

se pueda confirmar, a la vista de todos los resultados obtenidos hasta el momento, parece que lo más razonable sería la formación del complejo de estequiometría 1:1.

En la Figura 42 se muestra la simulación obtenida de las estructuras de los complejos de estequiometría 1:1 formados entre los ligandos modificadores de la pasta de carbón de los sensores y los cationes cobre (II), plomo (II) y mercurio (II).





## **V. APLICACIONES**



Para desarrollar las distintas aplicaciones con los sensores investigados en la presente memoria, se utilizan aquellos sensores que presentan las mejores propiedades analíticas. Por tanto, teniendo en cuenta los resultados obtenidos, los sensores modificados con los ligandos DTS ó TETDS son los más adecuados para el análisis de los iones cobre (II) y mercurio (II), para los que presentan similares características analíticas. En cambio, para las determinaciones de plomo (II) se utiliza el sensor modificado con el ligando DTS, ya que es el que presenta la mejor respuesta para este metal.

#### **V. 1. POTENCIOMETRÍA DIRECTA.**

Entre las distintas aplicaciones que pueden llevarse a cabo con los sensores potenciométricos se encuentra la determinación de la concentración del correspondiente analito mediante potenciometría directa. La determinación de un analito mediante la medida potenciométrica directa es rápida y sencilla, requiriendo sólo la comparación del valor de potencial medido en la disolución problema con los valores obtenidos cuando se sumerge el mismo sensor potenciométrico en una o más disoluciones patrón del analito.

En este apartado se describen algunos de los análisis realizados en muestras con diferentes matrices utilizando los sensores potenciométricos desarrollados en el presente estudio.

### V 1.1. Determinación de cobre en aceites lubricantes.

#### V 1.1.1. Características de la muestra

Los lubricantes y fluidos hidráulicos utilizados en maquinaria agrícola, motores de maquinaria pesada, aviones, automóviles, armamento militar, etc, son elementos fundamentales para el adecuado funcionamiento de estos equipos. La mayoría de las sustancias empleadas como lubricantes son un aceite o grasa cuya estructura es una cadena de hidrocarburos simple, al cual se le han añadido ciertos aditivos (un ácido orgánico y un metal como bario, zinc, calcio o magnesio) para prevenir tanto el desgaste y abrasión de los componentes, como la degradación por oxidación del propio aceite [157].

Los aceites lubricantes se utilizan en maquinaria que normalmente trabaja en condiciones extremas de calor y presión, por lo que no es extraño encontrar trazas de sustancias metálicas en ellos. Las pequeñas partículas de metal y las sales metálicas se encuentran suspendidas en estos lubricantes debido a la erosión de los componentes metálicos y a la oxidación de los mismos y formación con los productos de degradación del aceite de las correspondientes sales. Además, con el paso del tiempo el propio aceite lubricante va envejeciéndose y es necesario reemplazarlo para seguir proporcionando el adecuado nivel de protección. Por tanto, deben realizarse análisis periódicos de estos aceites para conseguir un óptimo funcionamiento de los equipos.

Los resultados obtenidos en los análisis de los lubricantes pueden usarse como un indicador del mantenimiento preventivo de maquinaria de ingeniería, minimizando de este modo los costes de reparación. Como cada una de las piezas que componen los equipos suelen estar compuestas por diferentes aleaciones, el aumento del nivel de concentración de un determinado metal en el aceite lubricante puede utilizarse para identificar el inminente fallo de un componente específico de la maquinaria en cuestión. Por ejemplo, un aumento de cromo sugiere el desgaste de un pistón, mientras que el aumento de cobre puede indicar el desgaste de cojinetes [158].

Por tanto, la necesidad de determinar cuales son las partículas metálicas que están presentes en el aceite lubricante, así como su concentración son datos muy importantes para el mantenimiento y operación de los correspondientes equipos. Cobre, estaño, cromo, níquel, aluminio, plomo, hierro, antimonio, boro, cadmio, etc., se encuentran entre los metales que normalmente pueden encontrarse y por tanto deben analizarse en este tipo de muestras [158].

#### V 1.1.2. Análisis de aceites lubricantes residuales.

Para estudiar las posibles aplicaciones y ver las posibles interferencias de otros metales en la medida de los iones cobre (II) con los sensores desarrollados en este trabajo, se realiza el análisis del contenido en cobre, hierro y plomo de tres aceites lubricantes procedentes de distintos equipos. La elección de estas especies metálicas se debe a que en la composición de la mayoría de las piezas de maquinaria de ingeniería está presente alguno de estos tres metales, y el hierro y plomo pueden dar lugar a interferencias en la determinación del cobre.

Tras realizar la digestión de las correspondientes muestras de acuerdo con el procedimiento indicado en el apartado III. 7.1. de Materiales y Métodos, se determina el contenido de estos tres metales por espectrofotometría de absorción atómica en llama. La disolución procedente de la digestión del aceite lubricante de coche contiene una concentración de hierro y cobre de 0.832 y 0.497 mg/l, respectivamente, en cambio no puede detectarse contenido de plomo, al presentarse en concentraciones por debajo del límite de detección en llama. Ocurre lo mismo para los tres metales, cuando se realiza el análisis de las disoluciones obtenidas tras la digestión de los aceites de avión y de la prensa hidráulica. Las concentraciones de estos tres metales se encuentran por debajo del límite de detección en el aceite de avión, mientras que en la muestra de aceite lubricante de la prensa hidráulica solamente puede determinarse el hierro que se encuentra en una concentración de 0.151 mg/l.

Con el fin de evaluar la utilidad del sensor potenciométrico modificado con el ligando TETDS, se realiza el análisis por potenciometría directa de cobre en el aceite de coche. Entre los sensores potenciométricos de cobre desarrollados, el seleccionado para realizar esta

aplicación es el modificado con el ligando TETDS, por ser el que presenta mejores características analíticas. Aunque el sensor modificado con el ligando DTS presenta límites de detección y tiempos de respuesta similares, el sensor TETDS muestra una menor interferencia en su respuesta cuando en la disolución se encuentran otros cationes metálicos. De hecho, a pesar de que la concentración de hierro en el aceite lubricante de coche es superior a la de cobre, la determinación con este sensor puede realizarse con fiabilidad, ya que la digestión de la muestra se realiza con HCl concentrado. De este modo, la concentración de cloruros presente en la disolución donde se realiza la medida potenciométrica es suficientemente alta para eliminar la interferencia de este metal.

En la Tabla 19 se comparan los resultados promedio obtenidos para las disoluciones correspondientes a la digestión de tres alícuotas de la muestra de aceite lubricante de coche determinadas con el sensor TETDS y por espectrofotometría de absorción atómica. Los datos obtenidos presentan una adecuada concordancia. La similitud obtenida indica que es adecuada la utilización de este sensor en análisis de muestras reales.

### V 1.2. Determinación de plomo en aleaciones de soldadura.

El plomo es uno de los metales más utilizados en la industria como componente de aleaciones o de forma elemental. Numerosas aleaciones, sobre todo aleaciones de bajo punto de fusión utilizadas en soldadura, están compuestas por este elemento y generalmente estaño. Según Fergusson [12] este tipo de muestras presentan porcentajes de plomo que se encuentran en el intervalo 27-97 %, aunque generalmente el valor es de 67 %, y porcentajes de estaño entre 3-63 %, aunque el valor más típico suele ser 33 %.

**Tabla 19.** Resultados obtenidos por espectrofotometría de absorción atómica en llama (AAS) y por potenciometría directa con los sensores TETDS y DTS en el análisis de cobre en lubricantes y plomo en una aleación, respectivamente.

COBRE en aceite lubricante residual		PLOMO en aleación de soldadura	
AAS	Sensor TETDS	AAS	Sensor DTS
88.7±0.7 µg/g	88.4±1.9 µg/g	70.2±3.5 %	72.2±1.4 %

Para determinar el contenido de plomo de una aleación de soldadura se realiza la digestión de la muestra con  $\text{HNO}_3$  concentrado. Así, se solubiliza el plomo, mientras que el estaño precipita como ácido metaestánico. La redisolución del estaño se consigue adicionando a la muestra  $\text{HCl}$  concentrado, aunque la ejecución de este paso no es necesaria, si el objetivo del análisis es únicamente la determinación del contenido de plomo de la muestra. De este modo, se evitan posibles interferencias del estaño en el análisis del plomo.

Entre los sensores de plomo descritos anteriormente, el sensor potenciométrico modificado con el ligando DTS es el que presenta mejores propiedades analíticas y por tanto, es el elegido para realizar la determinación de este metal en muestras reales. El análisis por potenciometría directa con el sensor DTS se realiza empleando el método de adición estándar para evitar las posibles interferencias en la respuesta potenciométrica dependiendo de cuales y en que cantidad se encuentren el resto de los componentes de la aleación comercial.

Tras la digestión y filtración de la muestra siguiendo el procedimiento descrito en el apartado III. 7.2., se prepara, por dilución, una disolución que contenga el electrolito y el tampón de pH en la concentración adecuada. En esta disolución se realiza la medida del potencial con el sensor potenciométrico modificado con el ligando DTS antes y después de la adición del patrón de plomo (II).

La determinación del contenido en plomo en la muestra se realiza con tres alícuotas de la misma. Los valores experimentales obtenidos (Tabla 19) por cada una de las técnicas empleadas son estadísticamente similares entre sí, y además son muy cercanos al contenido que según la bibliografía normalmente presentan este tipo de muestras. En esta determinación, la precisión alcanzada con el método potenciométrico es mejor que la alcanzada por el método espectrofotométrico.

### V. 2. VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS.

Los sensores potenciométricos pueden utilizarse como electrodos indicadores para establecer con comodidad el punto de equivalencia de valoraciones. De hecho, se obtienen datos más exactos cuando el punto final de una valoración se detecta mediante un método instrumental y no mediante el viraje de un indicador. El empleo de este tipo de sensores como indicadores en valoraciones es particularmente útil cuando se realiza la valoración de disoluciones altamente coloreadas o disoluciones turbias.

El objetivo de este apartado es evaluar la utilización de los sensores como electrodos indicadores en valoraciones potenciométricas de metales con ligandos y en las valoraciones de ligandos de diferente naturaleza. En este último apartado, mediante la valoración potenciométrica de los ácidos húmicos con cobre (II), plomo (II) y mercurio (II), se lleva a cabo la estimación de las constantes de estabilidad de los complejos que se forman entre estos compuestos, obteniendo así información de gran interés en los estudios de especiación de medios naturales.

#### V. 2.1 Valoraciones potenciométricas de los cationes metálicos con AEDT.

Para evaluar la capacidad los sensores potenciométricos desarrollados en este trabajo como indicadores de valoraciones potenciométricas, después de llevar a cabo la valoración, se comprueba si los resultados experimentales obtenidos coinciden con los esperados mediante cálculo teórico.

La forma más fácil de conseguir este objetivo es elegir adecuadamente el ligando con el que se realizan las distintas valoraciones. El compuesto seleccionado es el ácido etilendiaminotetraacético (AEDT), ligando ampliamente estudiado que forma complejos de estequiometría 1:1 con cada uno de los tres metales ensayados, cuyas constantes de formación son también conocidas. De este modo, se pueden comparar los resultados teóricos y experimentales en cada una de las valoraciones realizadas.



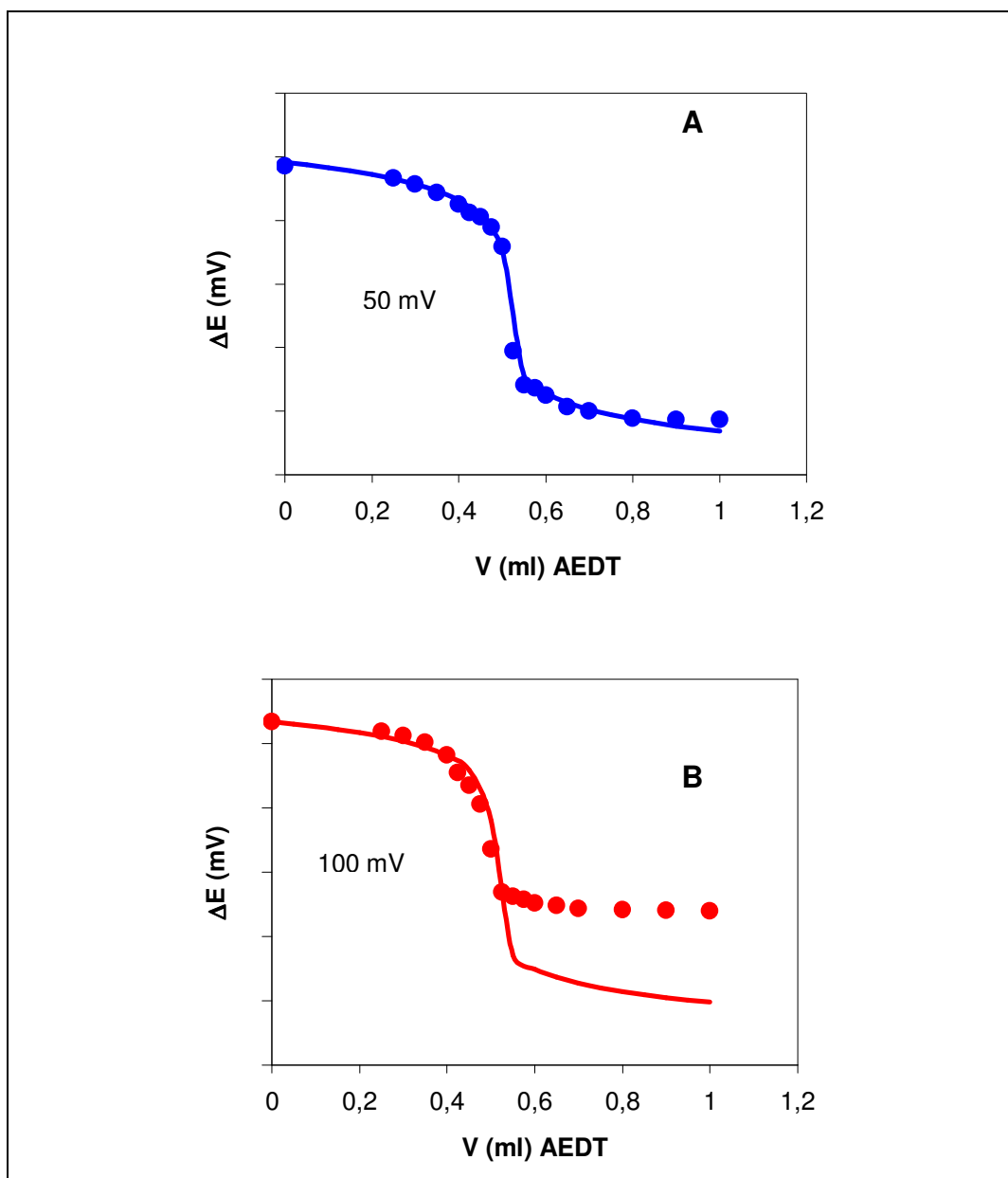
Se realizan valoraciones de disoluciones que contienen los iones cobre (II), plomo (II) o mercurio (II) utilizando como electrodos indicadores los sensores potenciométricos modificados con los ligandos DTS y TETDS, respectivamente. Las disoluciones a valorar contienen una concentración conocida de la especie metálica en las mismas condiciones de fuerza iónica y pH en las que se optimizan la medida potenciométrica con cada uno de los sensores.

Como la respuesta potenciométrica de los iones plomo (II) con el sensor DTS se ha evaluado a dos valores de pH, hay que elegir en que condiciones se va a realizar la valoración. Si la valoración se realiza a pH 4.2 la reacción de formación entre los iones plomo (II) y el ligando AEDT se encuentra justo en el límite de cuantitatividad, (suponiendo que una reacción es cuantitativa cuando se forma al menos el 99.9 % del complejo). En cambio, a pH 6.0 la constante condicional de formación de dicho complejo es mayor. Por tanto, la valoración de los iones plomo (II) con AEDT se realiza a este último valor de pH, donde la cuantitatividad de la reacción es mayor.

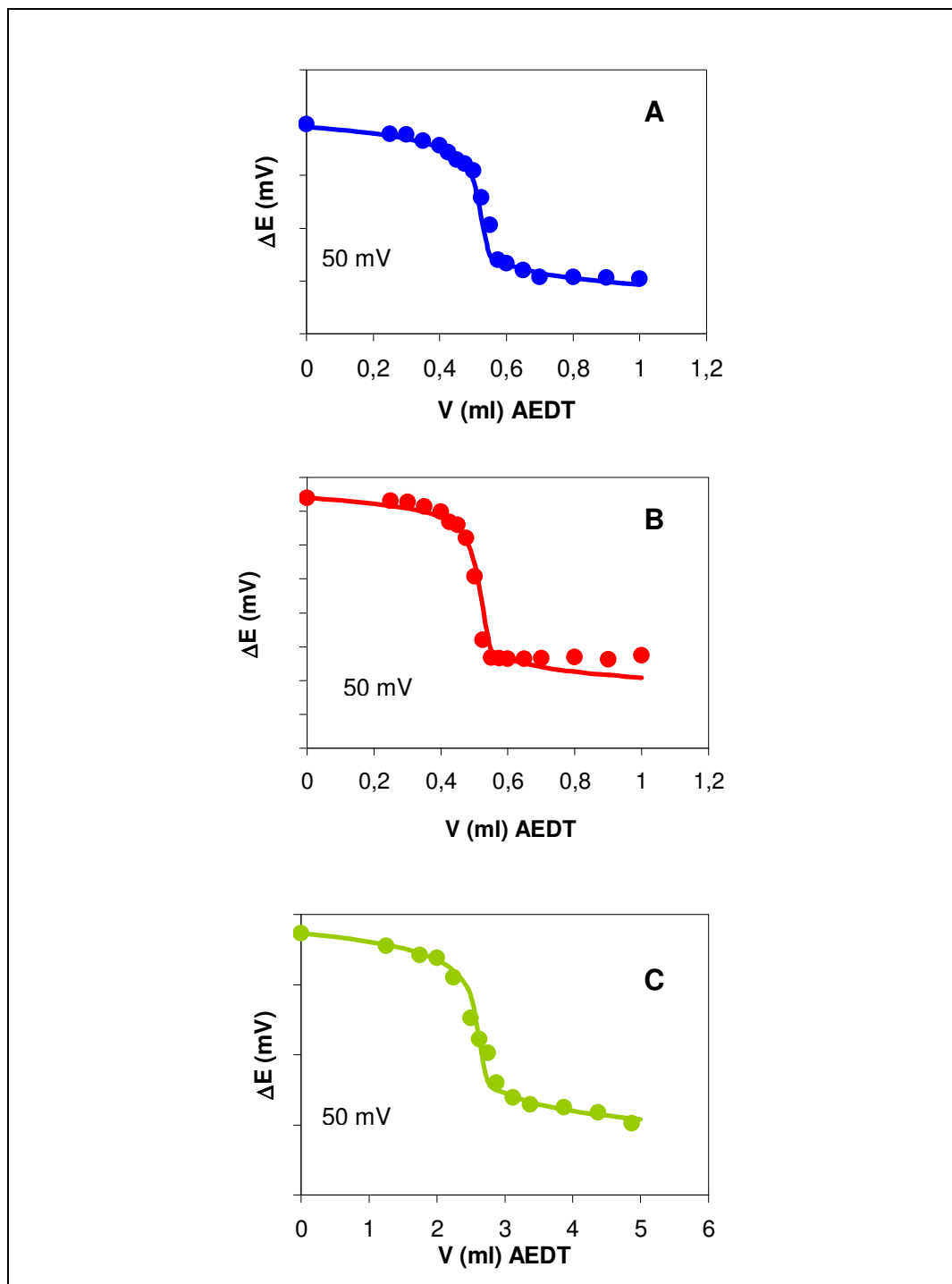
En las Figuras 43 y 44 se muestran los valores de potencial obtenidos en el transcurso de cada una de las valoraciones realizadas con el sensor potenciométrico TETDS y DTS, respectivamente. Además, en las mismas figuras se representan las curvas teóricas de valoración calculadas a partir de las constantes de formación condicionales de los correspondientes complejos metálicos con AEDT ( $\log K_f = 18.8, 24.8$  y  $18.3$  para los complejos de cobre, mercurio y plomo, respectivamente), en las condiciones de disolución y pH en que se efectúan cada una de las valoraciones.

En todos los casos, las representaciones muestran las típicas curvas de valoración con forma de sigmoide. En las valoraciones de los iones cobre (II) y plomo (II) realizadas con ambos sensores, la curva teórica coincide con la experimental en todos los puntos, incluido el de equivalencia. En cambio, cuando se realiza la valoración de los iones mercurio (II) una vez sobrepasado el punto de equivalencia, los datos experimentales no coinciden con los teóricos en ninguna de las valoraciones. En estos casos la concentración de mercurio (II) que queda en la disolución sin formar el complejo con el AEDT es inferior a la mínima concentración

detectable por los sensores potenciométricos investigados, por tanto no se aprecian variaciones en el valor del potencial. El efecto es más acusado cuando se utiliza el sensor TETDS como electrodo indicador, ya que al pH de medida (pH = 6.0) la cuantitatividad de la reacción de formación del complejo del mercurio con AEDT es mayor, dejando una menor concentración de metal libre en la disolución.



**Figura 43.** Curvas teóricas de valoración y datos experimentales de las valoraciones potenciométricas realizadas con el sensor potenciométrico TETDS.  
**A**– Valoración de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-3}$  M con AEDT 0.1000 M a pH 6.0. (•)–Datos experimentales, (–) Curva teórica.  
**B**– Valoración de  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-3}$  M con AEDT 0.1000 M a pH 6.0. (•)–Datos experimentales, (–) Curva teórica.



**Figura 44.** Curvas teóricas de valoración y datos experimentales de las valoraciones potenciométricas realizadas con el sensor potenciométrico DTS.

**A–** Valoración de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-3}$  M con AEDT  $0.1000$  M a pH 6.0. (●)-Datos experimentales, (—) Curva teórica.

**B–** Valoración de  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-3}$  M con AEDT  $0.1000$  M a pH 4.8. (●)-Datos experimentales, (—) Curva teórica.

**C–** Valoración de  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$   $1.00 \times 10^{-2}$  M con AEDT  $0.2000$  M a pH 6.0. (●)-Datos experimentales, (—) Curva teórica.

### V. 2.2 Caracterización de la interacción entre especies metálicas y ácidos húmicos.

Los ensayos realizados a nivel de concentración total de un determinado metal en un medio son inadecuados desde la perspectiva medioambiental. La forma química del metal determina su tendencia a reaccionar, lo que afecta en gran medida a su disponibilidad por los organismos acuáticos. La caracterización de las distintas formas químicas del metal es lo que se conoce como especiación. Aunque varios estudios han indicado que la biodisponibilidad de un metal puede en gran medida asociarse a la actividad del ión libre, hay otros trabajos donde se comentan las excepciones de este modelo [6, 159]. En ausencia de materia orgánica disuelta, se ha observado un aumento de la disponibilidad del metal en presencia de ligandos que forman complejos metal-ligando lipofílicos (por ejemplo, oxina, dietilditiocarbamato). También se han visto cambios en la disponibilidad con variaciones en el valor de pH y la dureza del agua. La presencia de ligandos hidrofílicos de bajo peso molecular reduce la biodisponibilidad del metal, pero no al nivel de la actividad del ión libre. En presencia de materia orgánica disuelta, existen casos en los que se ha visto un aumento de la disponibilidad y otros en los que esta se reduce [4].

Los sensores potenciométricos representan, esencialmente, la única técnica de medida que responde a una especie única y bien definida: el ión libre (acuocomplejo). Estos sensores se han empleado, en medidas de especiación, especialmente para determinar la capacidad complejante de las especies orgánicas en aguas naturales. La actividad del ión libre, medida potenciométricamente después de la adición de cantidades del metal a la muestra, se modeliza para determinar dicha capacidad complejante [4].

Cualquier información acerca de la complejación de los ligandos orgánicos presentes en las aguas naturales y sedimentos (como por ejemplo los ácidos húmicos y fúlvicos), así como el conocimiento de las constantes de estabilidad de formación de los correspondientes complejos, es un tema de interés fundamental en los estudios de especiación [112, 160-163]. Las valoraciones potenciométricas pueden utilizarse para estudiar los procesos de interacción que tienen lugar entre los metales y estos macroligandos orgánicos. Así, se pueden conocer las características de dichas sustancias y establecer las variaciones de dichas interacciones en función de los cambios en las condiciones ambientales [164-166].

### V. 2.2.1. Naturaleza de los ácidos húmicos

Entre la gran cantidad de sustancias orgánicas existentes en medios naturales, las sustancias húmicas forman el grupo más extenso. De hecho, más del 70% del carbón sólido orgánico y más del 90% del carbón orgánico disuelto se encuentra en forma de estas sustancias. Los ácidos húmicos son una mezcla heterogénea de ácidos polifuncionales, de gran tamaño y alto peso molecular cuyo color va desde el amarillo al negro [160, 167]. Aunque este grupo de ácidos polifuncionales no presenta una fórmula estructural uniforme, puede dividirse en tres grupos:

- ácidos húmicos, que son solubles en disoluciones alcalinas, pero precipitan en disoluciones ácidas (por debajo de pH 2.0).
- ácidos fúlvicos, que son solubles en disoluciones ácidas y alcalinas.
- humina, que no es soluble en agua a ningún pH.

La formación de las sustancias húmicas tiene lugar durante los procesos de descomposición de los seres vivos. Por tanto, suelen encontrarse en lodos, lignito, aguas naturales, sedimentos de aguas marinas y lagos, turba, hullas marrones y otros depósitos naturales. Forman un estado intermedio en el proceso de transformación de la materia orgánica que después, continua con el ciclo del carbón orgánico o se deposita como materia fósil. En el medioambiente acuático estos ácidos se encuentran como materia orgánica disuelta (puede pasarse a través de un filtro de 0,45  $\mu\text{m}$ ) y materia orgánica particulada (no pasan a través del filtro de 0,45 $\mu\text{m}$ ) dependiendo de los procesos de descomposición de la materia viva, de la asociación de las moléculas orgánicas con la materia particulada inorgánica y de la agregación de partículas pequeñas [160, 167].

Los modelos estructurales contemporáneos consideran las sustancias húmicas como macromoléculas polifuncionales, cuyas unidades básicas estructurales son anillos aromáticos de dos o tres tipos de fenoles más o menos condensados (normalmente con dos grupos hidroxilo libres), que están unidos a grupos tales como -COOH, -O-, -CH<sub>2</sub>-, -NH-, =N-, -S-. Los modelos propuestos consideran la existencia de compuestos procedentes de la matriz tales como taninos, carbohidratos y lípidos, que se incorporan a la estructura de los ácidos

húmicos. La multitud de posibles enlaces de estas unidades estructurales y su grado de biodegradación puede explicar la gran diversidad de las formas estructurales posibles de estos compuestos. Desafortunadamente, aunque un gran número de trabajos se han realizado para encontrar la naturaleza de estas sustancias, su estructura exacta no se conoce [124, 160, 167, 168]. En la Figura 45 se muestra el modelo estructural propuesto por Kleinhempel para un ácido húmico [4]. En este caso, se muestra una estructura tridimensional que contiene puentes y cadenas alifáticas, alta aromaticidad, un amplio número de sitios complejantes, y donde se muestra la posibilidad de agregaciones inter e intra-moleculares.

Las propiedades de los ácidos húmicos dependen en gran parte de la fuente de su procedencia. Las sustancias húmicas influyen en las propiedades de las aguas subterráneas, en los procesos de formación de combustibles y en la distribución de los cationes metálicos en el medioambiente. De hecho, estas sustancias son los agentes complejantes más importantes de los cationes metálicos en las aguas naturales y en las aguas intersticiales de lodos y sedimentos, por lo que tienen una influencia capital en la toxicidad, biodisponibilidad y transporte de estos metales. El enlace entre los ácidos húmicos y los cationes metálicos se debe a la presencia de grupos funcionales que contienen átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre como ligando [160, 161, 167, 168]. El conocimiento de las constantes de estabilidad de los compuestos formados entre las sustancias húmicas y los cationes metálicos, es de interés fundamental para predecir tanto las propiedades de complejación de los sedimentos como la especiación química de los metales en aguas naturales de composición conocida y poder así explicar el transporte de los iones metálicos en el medio ambiente [124, 160-163, 168].

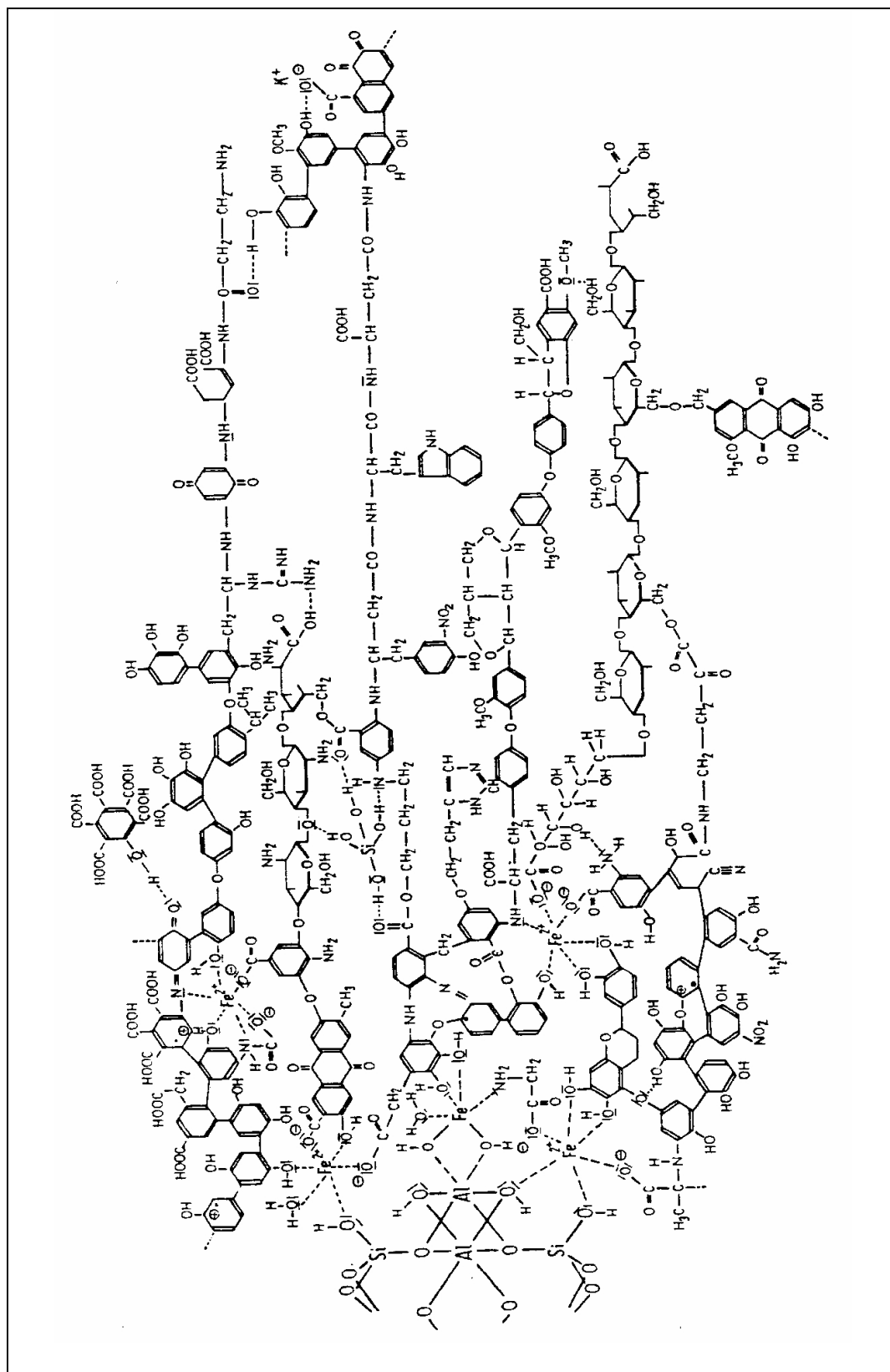


Figura 45. Estructura de un ácido húmico propuesta por Kleinhempel.

### V. 2.2.2. Caracterización de los ácidos húmicos mediante análisis elemental.

Se han caracterizado cuatro ácidos húmicos diferentes dos de ellos comerciales suministrados por Fluka (ácido húmico F) y por Aldrich (ácido húmico A) y otros dos naturales. Los ácidos húmicos naturales proceden de sedimentos del río Jarama, extraídos de dos puntos diferentes de su cuenca en San Martín de la Vega (ácido húmico SMV) y en Mejorada del Campo (ácido húmico MC), ambos en la provincia de Madrid. El procedimiento de extracción de estos últimos ácidos se indica en el apartado III. 1.3.

El **análisis elemental de las sustancias húmicas** se realiza mediante oxidación total de una pequeña porción de muestra por combustión instantánea y completa. La muestra se transforma en los productos de combustión  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2$  y  $\text{SO}_2$  que son analizados individualmente. El porcentaje de oxígeno se obtiene por diferencia entre la masa de muestra analizada y los porcentajes de C, H, N y S calculados. En la Tabla 20 se muestra la composición elemental de los ácidos húmicos investigados.

**Tabla 20.** Composición elemental de los ácidos húmicos comerciales y los ácidos húmicos extraídos de sedimentos de río investigados en este trabajo.

Ácido húmico	% C	% H	% N	% S	% O
A	42.04	4.40	0.45	1.96	51.15
F	40.58	4.32	0.98	1.32	46.80
MC	19.87	3.32	3.68	3.28	69.85
SMV	30.85	4.69	6.30	0.70	57.46

Los ácidos húmicos naturales presentan porcentajes de carbono inferiores y porcentajes de oxígeno y nitrógeno superiores a los de los ácidos comerciales. Además el mayor porcentaje de azufre se encuentra en el ácido húmico procedente de sedimentos de río de Mejorada del Campo (ácido húmico MC). Los resultados muestran una composición elemental muy diferente entre los ácidos húmicos comerciales y los procedentes de



sedimentos de río, que probablemente indica un mayor contenido en grupos funcionales en los ácidos húmicos extraídos de sedimentos naturales.

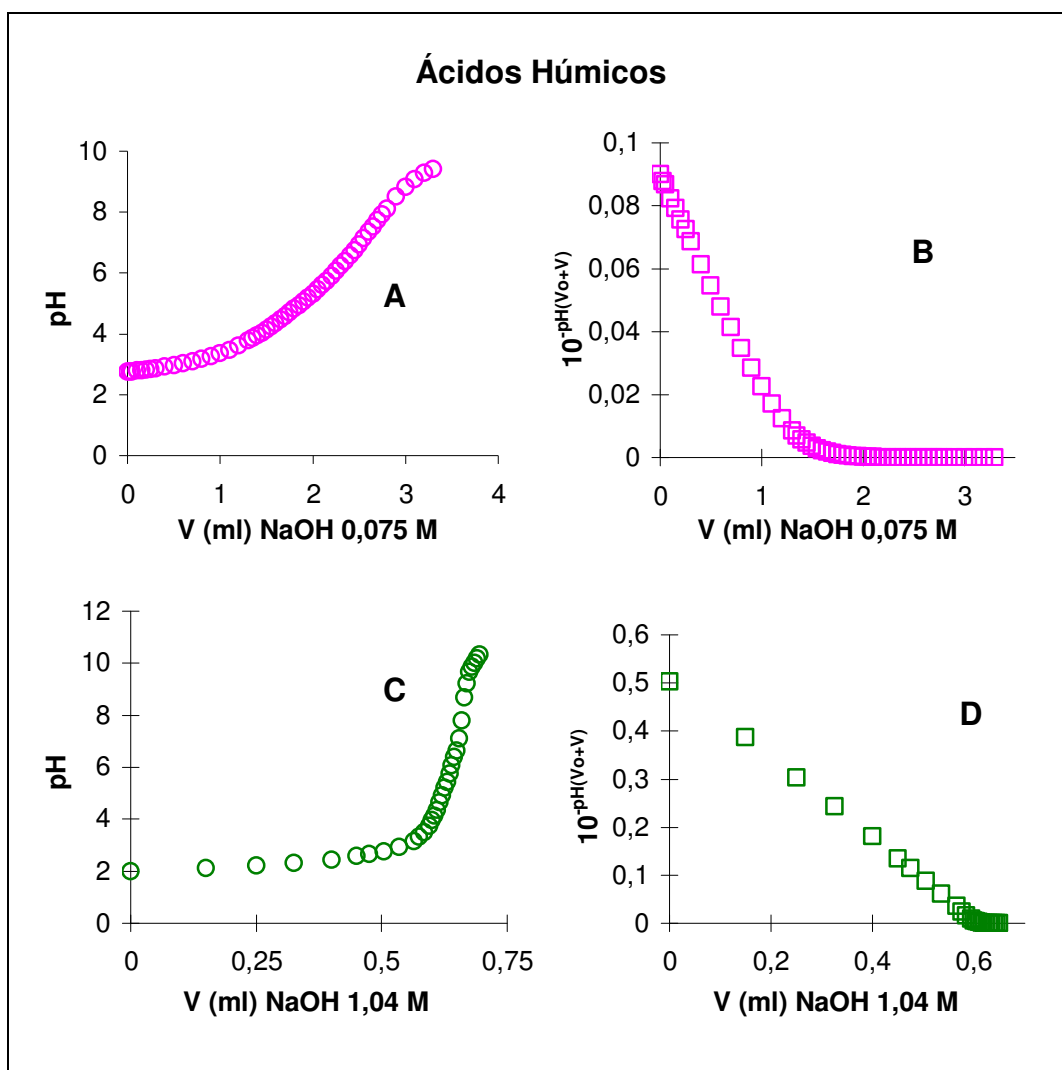
#### V. 2.2.3. Cálculo del peso equivalente de los ácidos húmicos.

Otro factor importante en la caracterización de un ácido húmico es estimar su peso molecular. Las sustancias húmicas son macromoléculas heterogéneas con una estructura indefinida por lo que en vez de presentar un determinado peso molecular muestran un intervalo de posibles valores. Pero para determinadas aplicaciones, como por ejemplo para estimar las constantes de estabilidad de estas sustancias con los cationes metálicos, es necesario disponer de un valor aproximado de su peso molecular.

Como los elementos mayoritarios de las sustancias húmicas son el carbono y el oxígeno y el grupo carboxílico es uno de los grupos funcionales con mayor actividad complejante presente en estas macromoléculas, normalmente la concentración de los ácidos húmicos suele expresarse como concentración molar de grupos carboxílicos [124]. La obtención de este peso equivalente se basa en la acidez del grupo carboxílico, por lo que se realizan valoraciones ácido-base de los correspondientes ácidos húmicos. Se preparan disoluciones de los ácidos húmicos a los que se les añade una pequeña cantidad de HCl para disminuir el pH de la disolución a 2.5 ó 3.0. En estas valoraciones el equilibrio se establece rápidamente, por lo que se obtienen óptimos resultados cuando la valoración se realiza mediante adiciones secuenciales en cortos períodos de tiempo de pequeños volúmenes de disolución de NaOH normalizada.

El exceso de HCl añadido se valora junto con los grupos ácidos más débiles de los ácidos húmicos, por lo que es necesario calcular el volumen de base gastada para valorar este exceso de ácido mineral. Para este cálculo se emplea el método propuesto por Gran [124, 131].

En la Figura 46 se muestran las valoraciones ácido-base del ácido húmico comercial de Aldrich (A) y el ácido húmico natural de sedimentos del río Jarama en San Martín de la Vega (SMV), así como la representación realizada por el método de Gran para calcular el exceso de HCl añadido en cada una de las valoraciones.



**Figura 46.** Valoraciones ácido-base de ácidos húmicos y representaciones del método de Gran para calcular el exceso de ácido mineral añadido.

**A**– disolución de ácido húmico Aldrich (A) 1.00 g/l

**B**– representación de Gran para la valoración ácido húmico A

**C**– disolución de ácido húmico de sedimento de río (SMV) 1.00 g/l

**D**– representación de Gran para la valoración ácido húmico SMV

El aumento gradual del valor de pH con la adición de base mostrado en las Figuras 46.A y 46.C indica la gran capacidad complejante de los ácidos húmicos, de acuerdo con el concepto de que estas sustancias se comportan como polielectrolitos de ácidos débiles. Pero como son muestras de naturaleza heterogénea las características de la valoración potenciométrica pueden desviarse de las que se esperarían de un típico polielectrolito de ácidos débiles que contiene la misma unidad repetitiva. Por tanto, como no puede considerarse que los grupos carboxílicos de las sustancias húmicas tengan una posición regular en la estructura de la macromolécula, sus propiedades ácidas están influenciadas por otros grupos reactivos que se encuentren próximos como por ejemplo por la presencia de grupos hidroxilo  $-OH$  [124].

Para calcular el peso equivalente de los ácidos húmicos se considera un valor de pH 7.0 como punto final para la ionización de los grupos carboxílicos, considerando que a este pH todos los grupos carboxílicos se encuentran desprotonados, mientras que los grupos fenólicos todavía están protonados [124, 129, 130]. Antes, se determina la cantidad de base gastada en valorar el exceso de ácido mineral añadido al comienzo de la valoración, mediante la intersección de los dos tramos lineales de la representación de Gran. Las Figuras 46.B y 46.D muestran los tramos de distinta pendiente obtenidos en las representaciones de Gran de las valoraciones del ácido húmico comercial A y natural SMV, respectivamente.

Los pesos equivalentes expresados en función de grupos carboxílicos obtenidos son 610 y 470 g/eq para los ácidos húmicos comerciales de Aldrich (A) y Fluka (F), respectivamente y 1786 y 1076 g/eq para los ácidos húmicos extraídos de sedimentos de río MC y SMV, respectivamente. Como es lógico, cuanto mayor es el porcentaje de oxígeno del ácido húmico mayor es el peso equivalente obtenido.

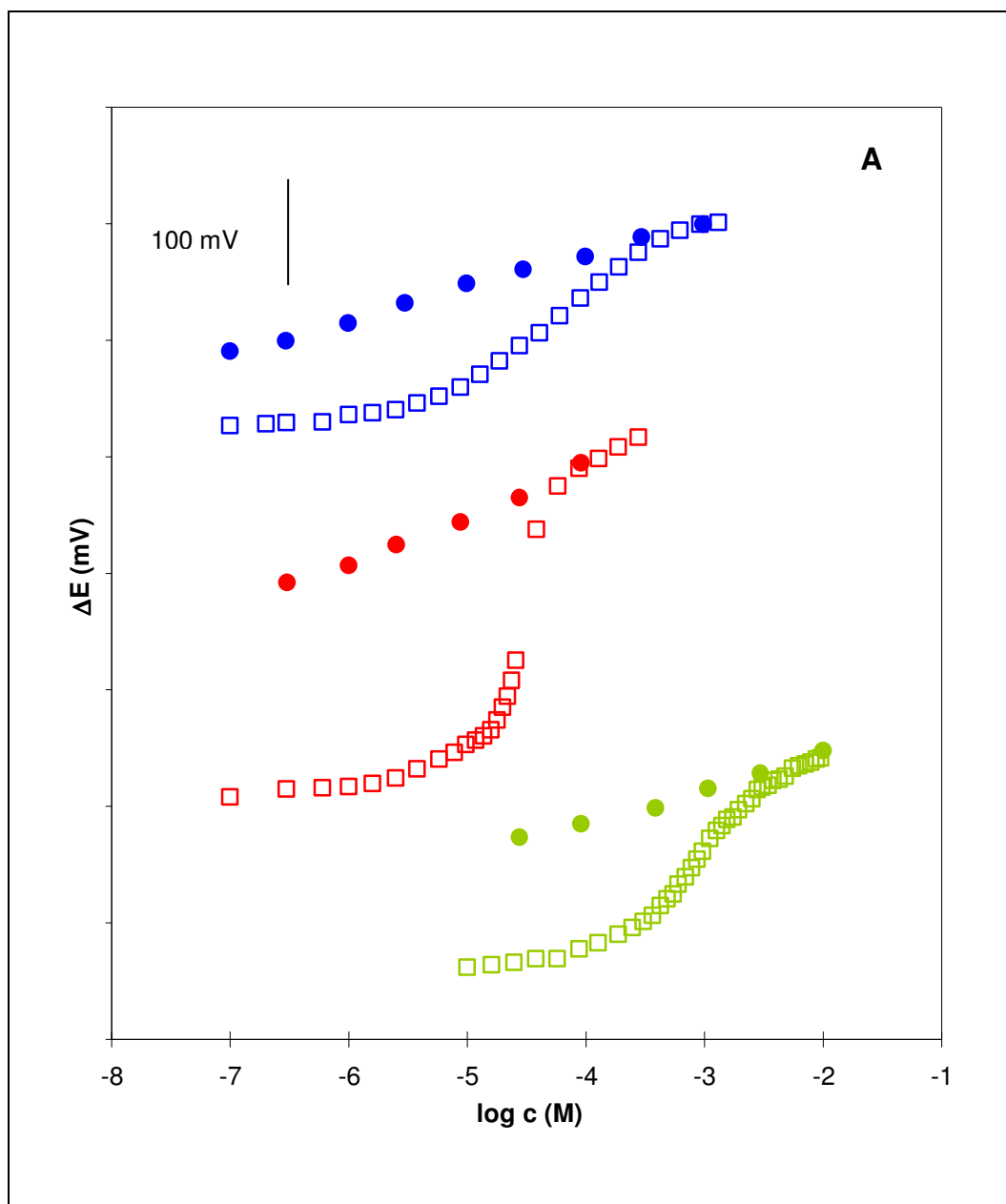
#### V. 2.2.4. Valoración potenciométrica de los ácidos húmicos. Cálculo de las constantes de estabilidad.

Como ya se ha indicado la toxicidad de los metales pesados en el medioambiente acuoso depende de propiedades tan importantes como la biodisponibilidad y la movilidad, que

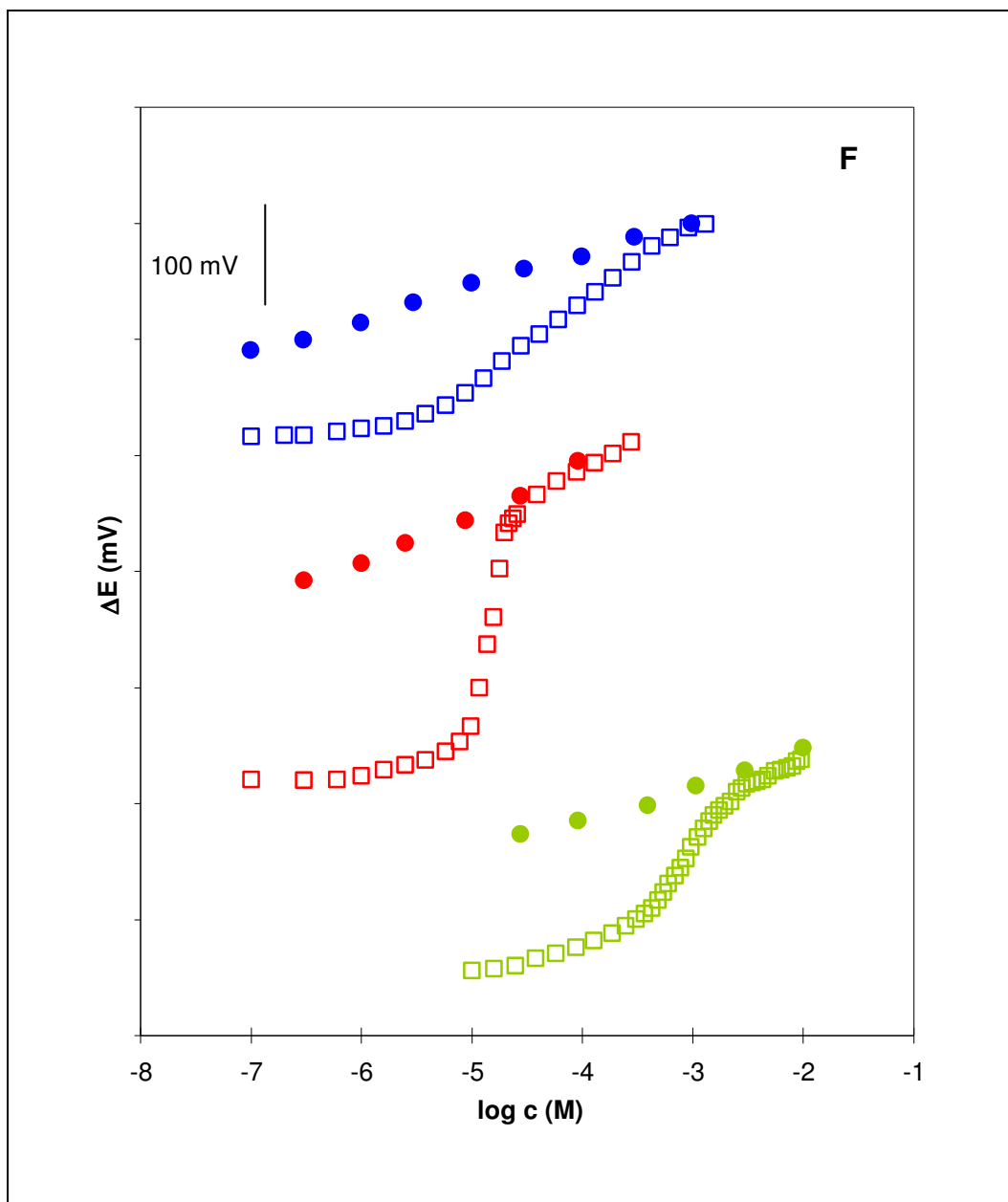
están íntimamente relacionadas con la naturaleza de las especies metálicas. El conocimiento de la forma fisicoquímica de las especies metálicas ha generado recientemente un gran número de estudios sobre la complejación de estos iones metálicos en el medio ambiente [8, 163].

Para estudiar las propiedades de complejación de los distintos ácidos húmicos se realiza la valoración potenciométrica de los mismos con los iones cobre (II), plomo (II) y mercurio (II), utilizando como electrodo indicador el sensor potenciométrico modificado con el ligando DTS. Las valoraciones se realizan en las mismas condiciones en las que se realiza la determinación potenciométrica de estos cationes con el sensor elegido. Por tanto, la disolución de ácido húmico tiene además una concentración de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y de PIPES 0.01 M, como electrolito soporte y tampón de pH 6.0 respectivamente, cuando la valoración se realiza adicionando cantidades crecientes de cobre (II) o plomo (II). En el caso de los iones mercurio, se utiliza el mismo electrolito soporte, pero el tampón de pH 4.8 utilizado es  $\text{HAc}/\text{NaAc}$  0.01 M. El estudio se realiza con los cuatro ácidos húmicos analizados en el apartado V. 2.2.2.

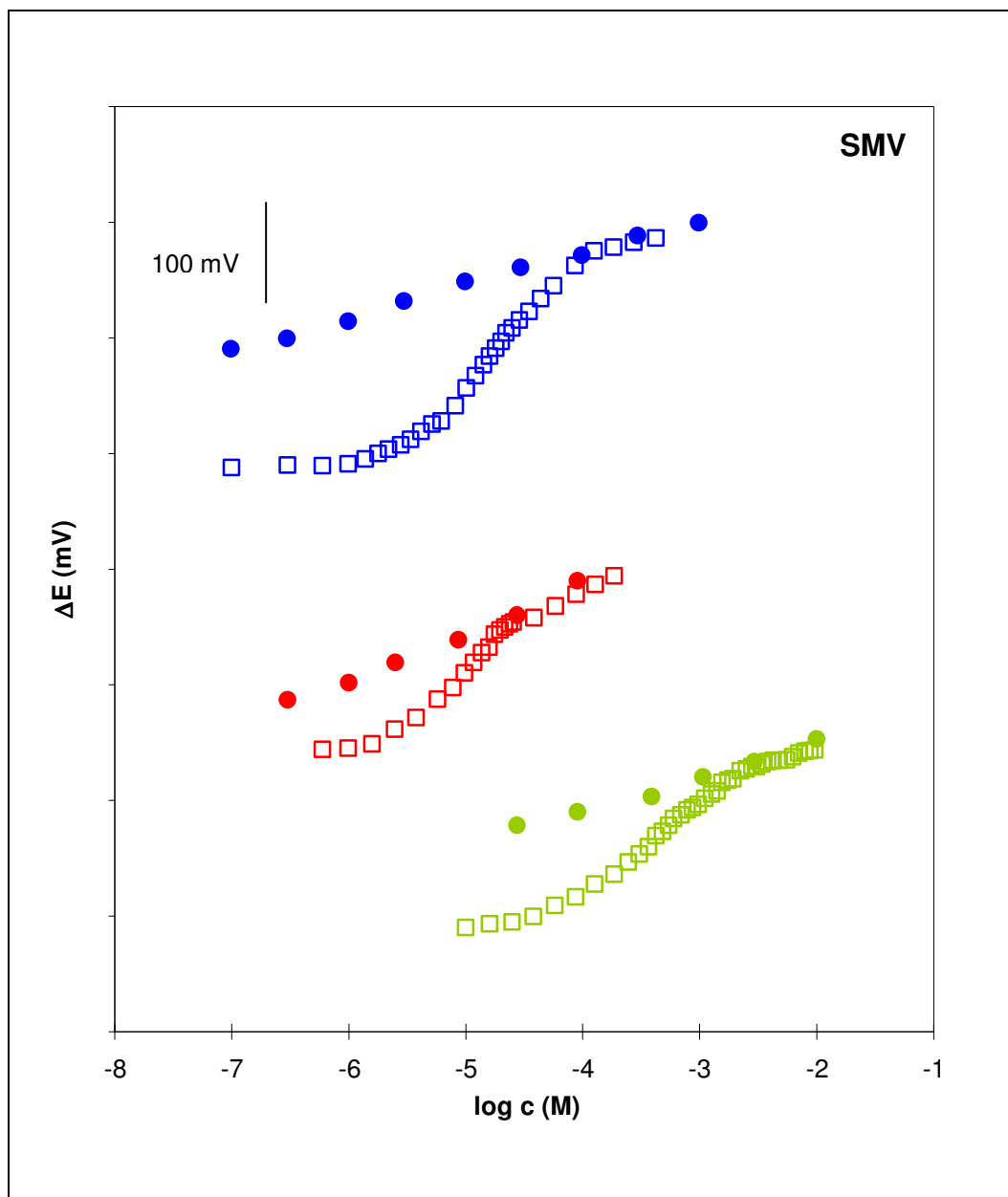
Las Figuras 47-50 muestran las curvas de valoración obtenidas para cada especie metálica ensayada en las valoraciones de disoluciones 0.30 g/l de los ácidos húmicos comerciales suministrados por Aldrich y Fluka, respectivamente, y de disoluciones de 0.30 g/l de los ácidos húmicos naturales SMV y MC, respectivamente. En estas mismas Figuras también se representan las rectas de calibrado del sensor potenciométrico DTS en función de la concentración de los cationes cobre (II), plomo (II) y mercurio (II). En todos los casos se muestran las típicas respuestas obtenidas en las valoraciones potenciométricas. Comparando las curvas de valoración obtenidas para un mismo catión metálico, se observan distintas variaciones en el valor del potencial. Este comportamiento se debe a la naturaleza del propio ácido húmico. Por tanto, no es de extrañar que para cada ácido húmico valorado se obtengan distintos valores de las constantes de estabilidad de los compuestos formados entre los correspondientes cationes metálicos y los ácidos húmicos.



**Figura 47.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % DTS en ausencia (círculos) y en presencia (cuadrados) de una disolución de ácido húmico comercial Aldrich en concentración 0.30 g/l, a fuerza iónica constante.  
 (•, □) -  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0, (•, □) -  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  a pH 4.8 y (•, □) -  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0.

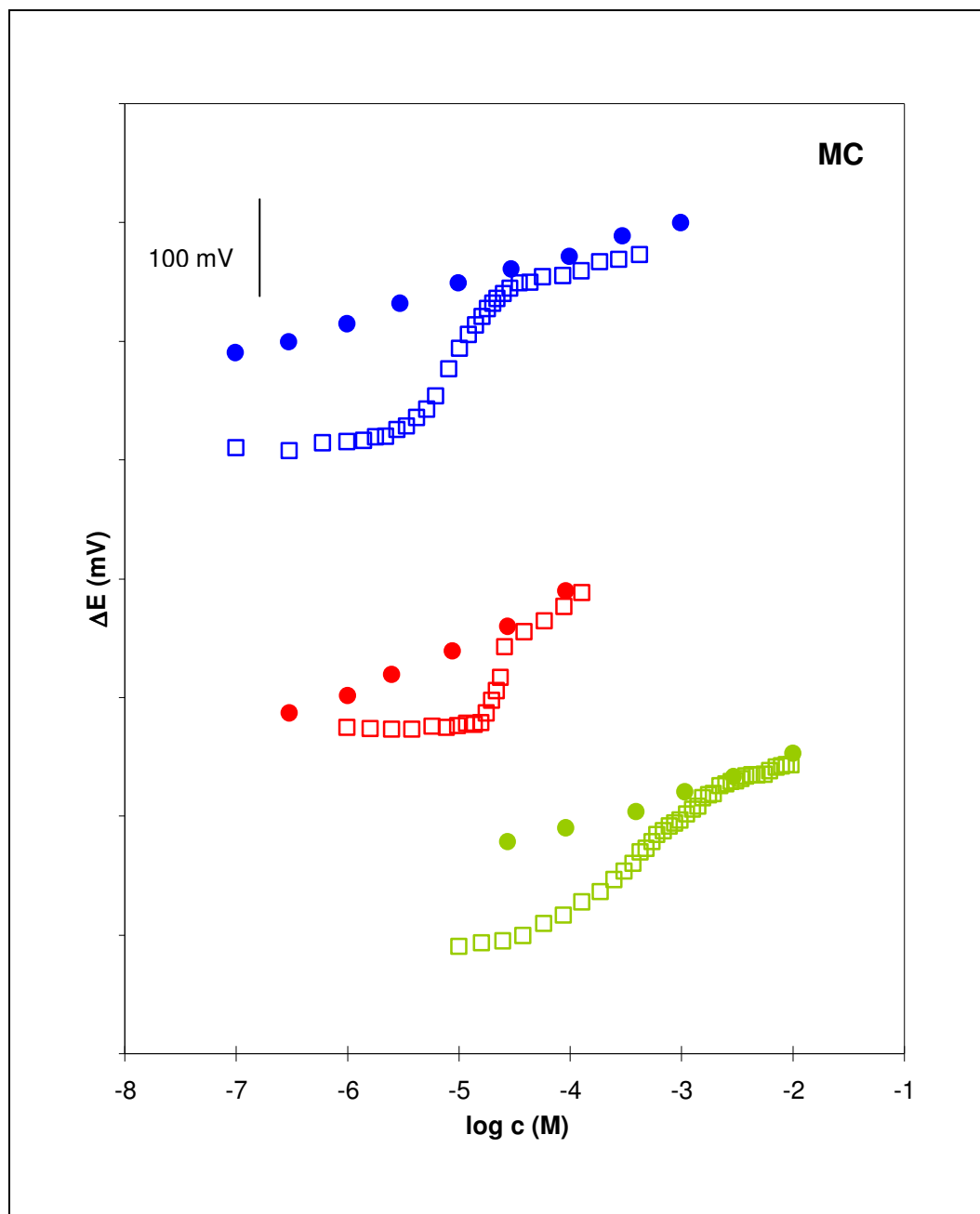


**Figura 48.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % DTS en ausencia (círculos) y en presencia (cuadrados) de una disolución de ácido húmico comercial Fluka en concentración 0.30 g/l, a fuerza iónica constante.  
(●, □) -  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0, (●, □) -  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  a pH 4.8 y (●, □) -  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0.



**Figura 49.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % DTS en ausencia (círculos) y en presencia (cuadrados) de una disolución de ácido húmico natural SMV en concentración 0.30 g/l, a fuerza iónica constante.

(●, □) -  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0, (●, □) -  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  a pH 4.8 y (●, □) -  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0.



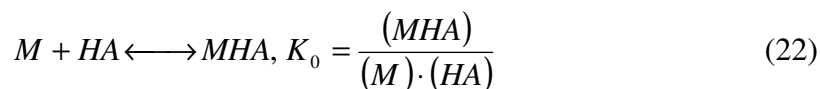
**Figura 50.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 24.1 % DTS en ausencia (círculos) y en presencia (cuadrados) de una disolución de ácido húmico natural MC en concentración 0.30 g/l, a fuerza iónica constante.  
(●, □) -  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0, (●, □) -  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  a pH 4.8 y (●, □) -  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  a pH 6.0.



En todas las representaciones de las curvas de valoración de los ácidos húmicos con los cationes metálicos pueden distinguirse tres secciones. La primera sección, antes del punto de equivalencia, corresponde a las primeras adiciones de metal donde prácticamente no hay variación del valor del potencial con la concentración de la especie metálica. En la siguiente sección se encuentra el punto de equivalencia y corresponde al tramo donde se produce un gran incremento en el valor del potencial con la adición de la disolución del correspondiente catión metálico. Por último, el tercer tramo que corresponde a la zona donde se producen las adiciones de mayor concentración de metal, es donde se produce la estabilización del potencial, obteniendo valores similares a la respuesta potenciométrica del sensor en ausencia del ácido húmico. Solamente los datos de la valoración pertenecientes al segundo tramo, donde se produce la gran variación del potencial en función de la concentración del catión metálico son adecuados para el cálculo de las correspondientes constantes de estabilidad [124].

Los datos de cada una de las valoraciones cercanos al punto de equivalencia donde se producen los grandes incrementos del valor del potencial para cada adición de catión metálico en la disolución de medida se modelizan siguiendo el método propuesto por Scatchard [169].

El método de la representación gráfica de Scatchard se ha elegido para realizar multitud de estudios de interacción entre iones y macromoléculas [124, 170, 171]. De acuerdo a este método, si la macromolécula contiene un sitio activo en el cual los iones metálicos pueden enlazarse, la reacción y su constante de estabilidad,  $K_0$  pueden escribirse como:



En la cual las cargas se han omitido para simplificar. Podemos expresar el grado de complejación en función de  $\nu$  definido como:

$$\nu = \frac{\text{Concentración molar del ion metálico enlazado}}{\text{Concentración del ácido húmico}} = \frac{M_b}{HA_t} \quad (23)$$

Por lo tanto,  $\nu$  indica la fracción de posiciones potenciales de enlace ocupadas por los iones metálicos. Como el ión metálico libre (designado aquí como  $M$  aunque más adecuado sería designarlo como la correspondiente especie cargada  $M^{2+}$ ) es la magnitud cuantificable, los valores de la concentración molar del ión metálico enlazado a los complejos ( $M_b$ ) se obtienen de la diferencia entre la concentración total añadida ( $M_t$ ) y el ión metálico libre, es decir,  $M_b = M_t - M$ .

Para enlaces en “posiciones idénticas e independientes”,  $\nu$  puede expresarse como:

$$\nu = \frac{nK_0(M)}{1 + K_0(M)} \quad (24)$$

Donde  $n$  es el número de posiciones de enlace por macromolécula de ácido húmico. Reorganizando los términos la ecuación queda como:

$$\frac{\nu}{M} = nK_0 - \nu K_0 \quad (25)$$

Al representar  $\nu / M$  versus  $\nu$  debería obtenerse una línea recta, donde  $K_0$  y  $n$  pueden estimarse de la pendiente y de la ordenada en el origen al extrapolar dicha recta. Sin embargo, al aplicarlo al enlace entre algunos iones metálicos y las sustancias húmicas, la representación gráfica es una curva cóncava, lo que implica que la molécula presenta más de un tipo de posiciones de enlace. Suponiendo que hay dos tipos de posiciones de enlace, se pueden obtener las correspondientes constantes de estabilidad ( $K_1$  y  $K_2$ ) por segmentación de la curva en dos líneas rectas, y siguiendo el procedimiento descrito. Los resultados, suponiendo dos posiciones de enlace, es mejor expresarlos en términos de la posición de enlace más fuerte ( $\log K_1$ ) y la posición de enlace más débil ( $\log K_2$ ).

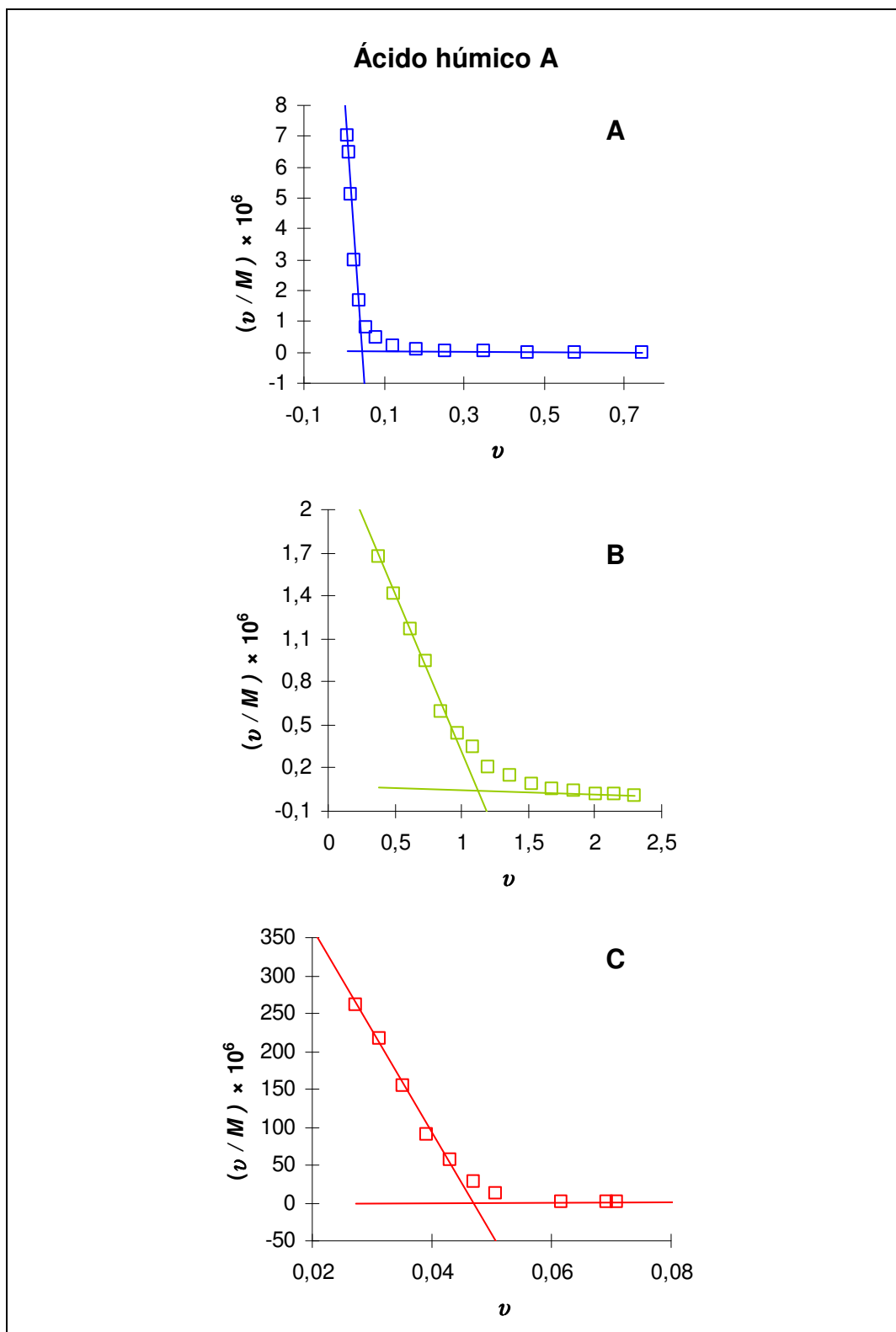
Al realizar la representación de  $\nu / M$  versus  $\nu$ , de cada una de las valoraciones realizadas en este estudio, en vez de una línea recta se obtiene una curva cóncava, lo que indica la presencia de más de una posible posición de enlace metal-ligando en el ácido

húmico. Aunque los ácidos húmicos contienen más de dos tipos diferentes de grupos funcionales con propiedades complejantes, puede suponerse satisfactoriamente que este enlace se produce solo a través de dos posiciones distintas [163]. Por tanto, suponiendo estos dos tipos distintos de posiciones de enlace con los cationes metálicos, pueden obtenerse las correspondientes constantes de estabilidad ( $K_1$  y  $K_2$ ) por segmentación de la curva en dos líneas rectas, siguiendo el procedimiento descrito. La modelización de las representaciones gráficas de las valoraciones reflejadas en las Figuras 47-50, según el modelo propuesto por Scatchard, se muestran en las Figuras 51-54.

Los resultados obtenidos por el modelo de las dos posiciones de complejación se expresan en términos de posición de complejación más fuerte ( $\log K_1$ ) y posición de enlace más débil ( $\log K_2$ ). En la Tabla 21 se muestran las constantes de estabilidad obtenidas para cada uno de los ácidos húmicos valorados con los cationes cobre (II), plomo (II) y mercurio (II).

**Tabla 21.** Resultados experimentales de las constantes de estabilidad condicionales de los complejos formados entre los iones cobre (II), mercurio (II) y plomo (II) y los ácidos húmicos investigados.

Ácido Húmico	Cu (pH 6.0)		Hg (pH 4.8)		Pb (pH 6.0)	
	$\log K_1$	$\log K_2$	$\log K_1$	$\log K_2$	$\log K_1$	$\log K_2$
Aldrich (A)	8.39	5.17	10.13	8.78	6.34	4.48
Fluka (F)	8.45	5.43	10.07	6.43	6.13	4.79
Sedimento (MC)	9.13	5.82	6.99	4.71	5.31	4.08
Sedimento (SMV)	9.72	6.56	6.81	4.53	5.72	3.79

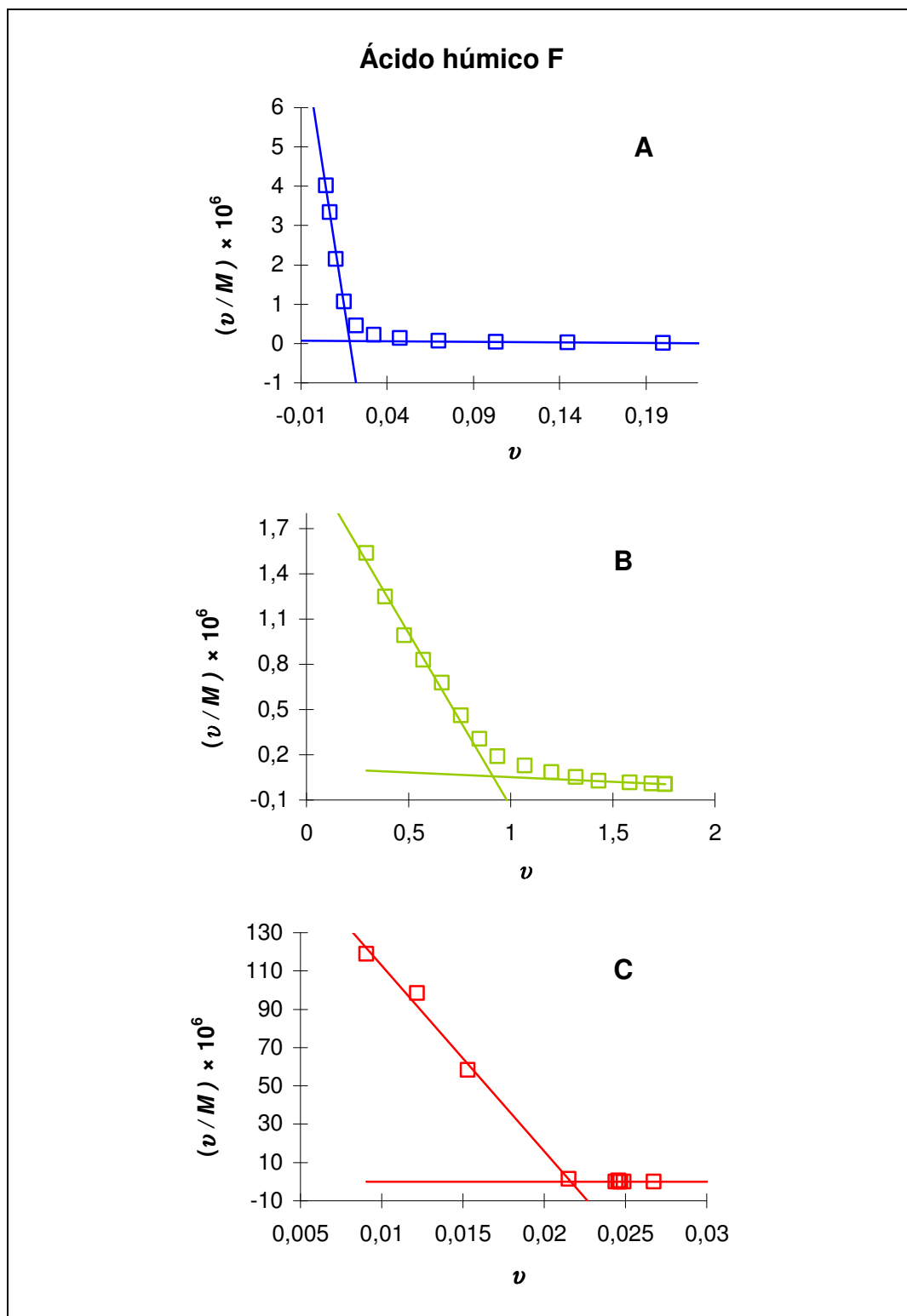


**Figura 51.** Representaciones gráficas siguiendo el modelo propuesto por Scatchard de las valoraciones del ácido húmico de la Figura 47.

**A**– valoración con  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico Aldrich (A) 0.30 g/l, a pH 6.0.

**B**– valoración con  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico Aldrich (A) 0.30 g/l, a pH 6.0.

**C**– valoración con  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico Aldrich (A) 0.30 g/l, a pH 4.8.

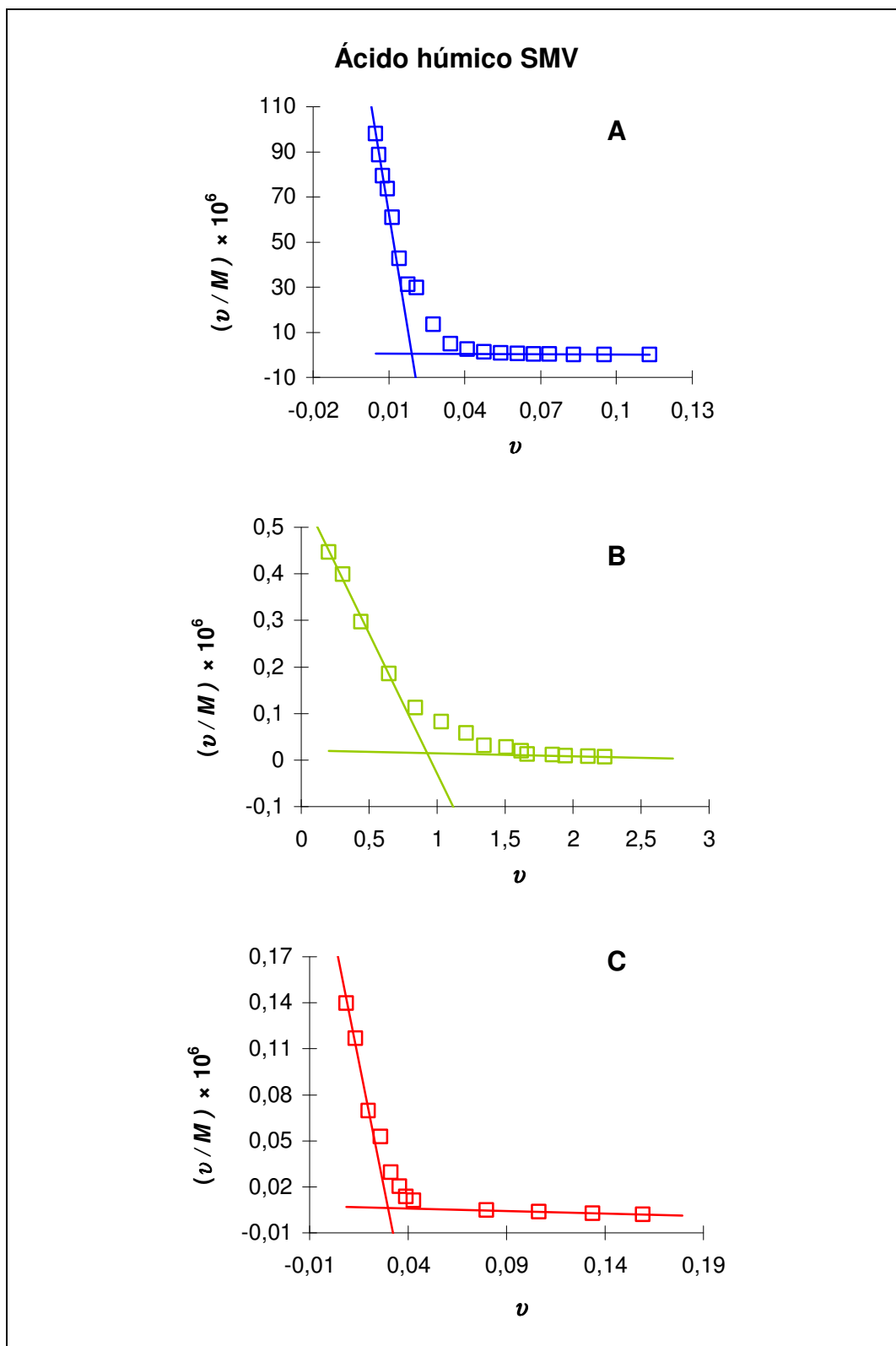


**Figura 52.** Representaciones gráficas siguiendo el modelo propuesto por Scatchard de las valoraciones del ácido húmico de la Figura 48.

**A**– valoración con  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico Fluka (F) 0.30 g/l, a pH 6.0.

**B**– valoración con  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico Fluka (F) 0.30 g/l, a pH 6.0.

**C**– valoración con  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico Fluka (F) 0.30 g/l, a pH 4.8.

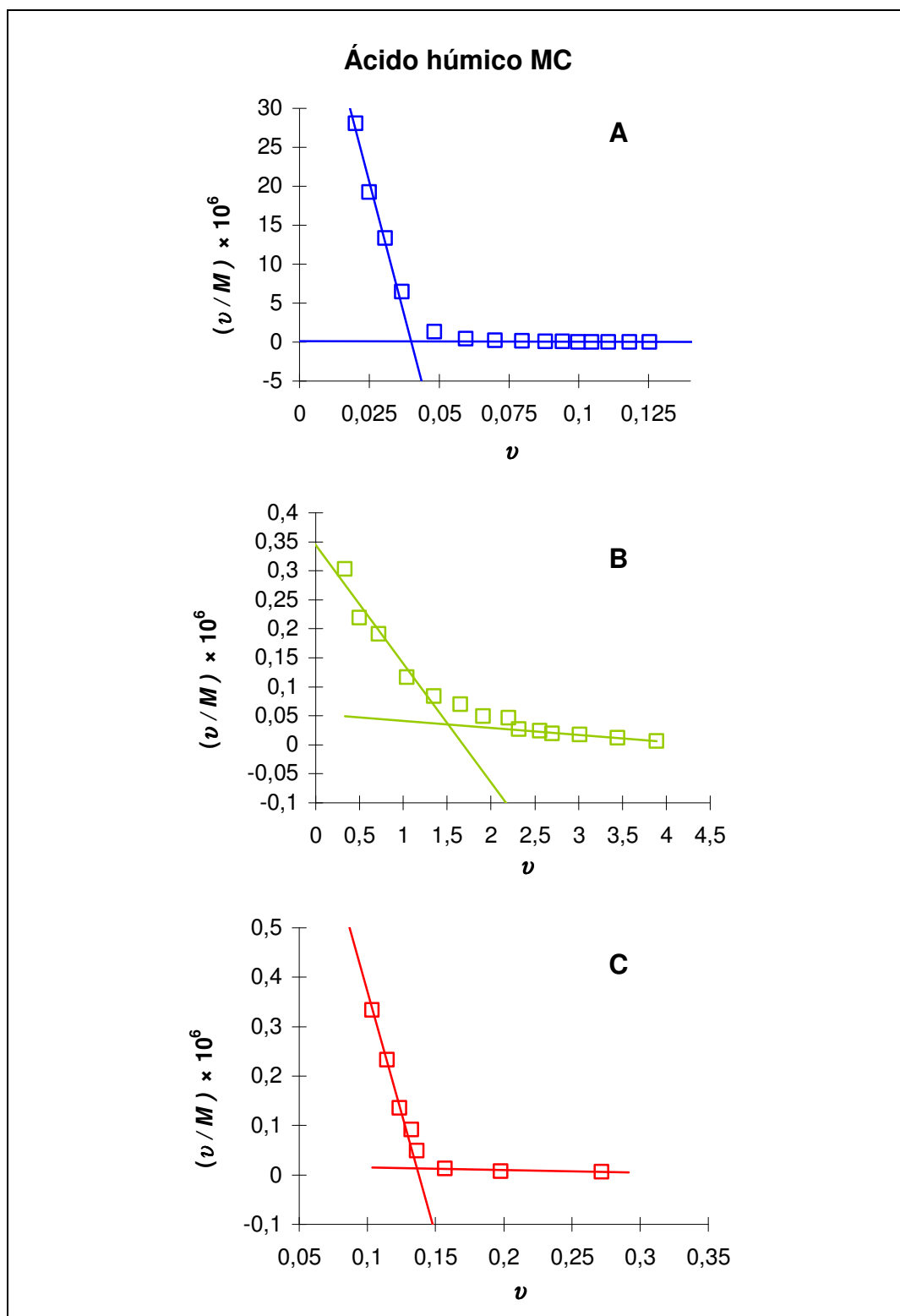


**Figura 53.** Representaciones gráficas siguiendo el modelo propuesto por Scatchard de las valoraciones del ácido húmico de la Figura 49.

**A**– valoración con  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico natural (SMV) 0.30 g/l, a pH 6.0.

**B**– valoración con  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico natural (SMV) 0.30 g/l, a pH 6.0.

**C**– valoración con  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico natural (SMV) 0.30 g/l, a pH 4.8.



**Figura 54.** Representaciones gráficas siguiendo el modelo propuesto por Scatchard de las valoraciones del ácido húmico de la Figura 50.

**A**– valoración con  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico natural (MC) 0.30 g/l, a pH 6.0.

**B**– valoración con  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico natural (MC) 0.30 g/l, a pH 6.0.

**C**– valoración con  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  de ácido húmico natural (MC) 0.30 g/l, a pH 4.8.

### *Constantes de estabilidad cobre-ácidos húmicos*

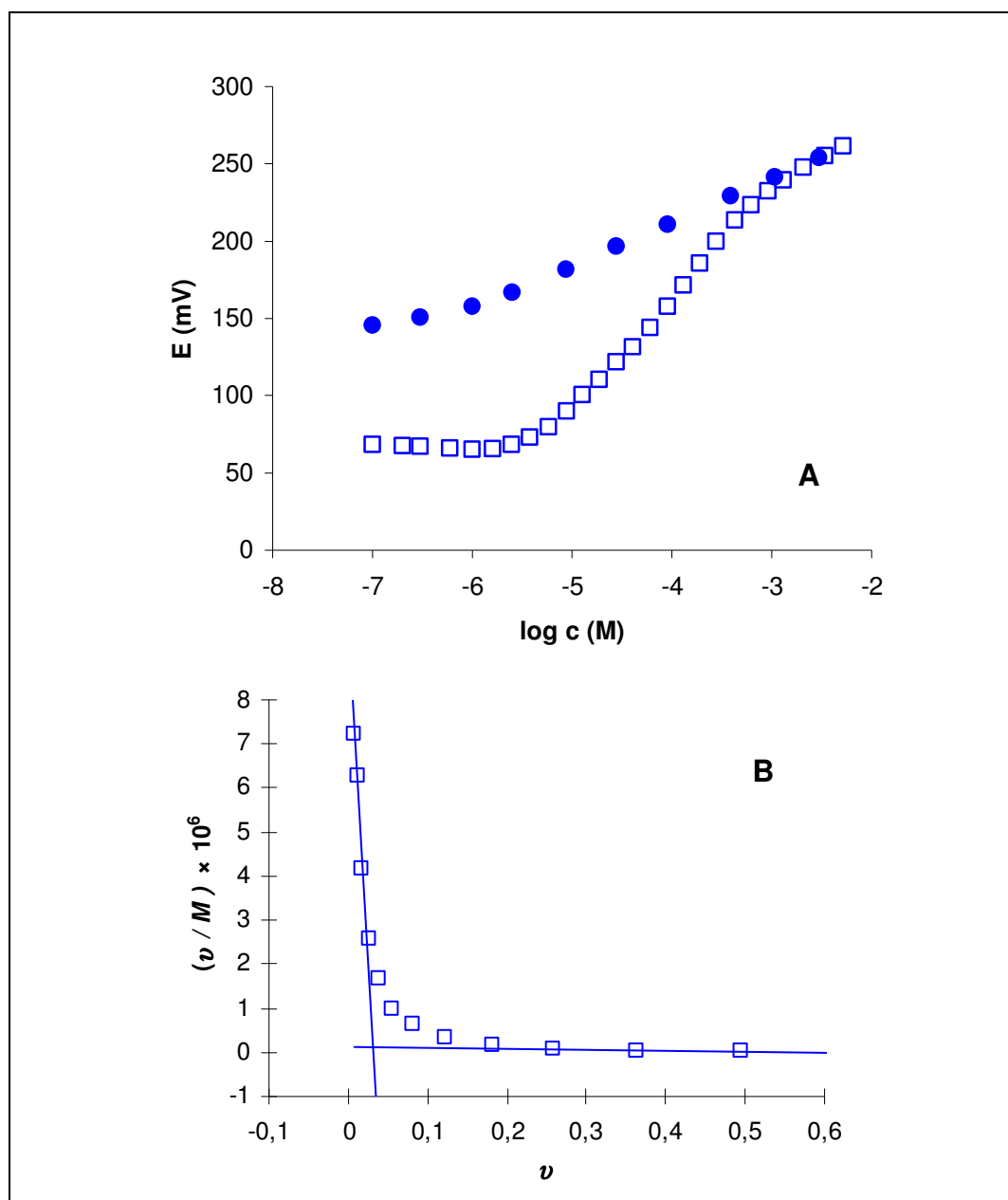
La comparación de los valores de las constantes de estabilidad de los complejos metal-ácidos húmicos procedentes de diferentes estudios es complicada. En primer lugar, dependiendo del modelo empleado para calcular estas constantes de estabilidad se realizan diferentes hipótesis. Por otro lado, no hay que olvidar que los equilibrios de complejación entre los ácidos húmicos y las distintas especies metálicas están influenciados por la conformación de la materia húmica en disolución. Dependiendo de las condiciones de la disolución (por ejemplo concentración de los ácidos húmicos, pH, fuerza iónica, temperatura) las sustancias húmicas pueden mostrar comportamientos distintos. La dificultad de cuantificar y analizar los efectos conformacionales de sustancias de naturaleza heterogénea hace que no pueda predecirse el comportamiento de los húmicos. Por tanto la comparación de los valores de las constantes de estabilidad tiene un significado muy limitado a menos que las condiciones en las que se lleva a cabo el cálculo sean las mismas o muy similares [162, 164, 172, 173].

Con el fin de mostrar que el sensor potenciométrico modificado con el ligando DTS es adecuado para investigar las características de complejación de los ácidos húmicos con las distintas especies metálicas, se repiten las valoraciones potenciométricas de los ácidos húmicos comercializados por Fluka y Aldrich con los iones cobre (II), utilizando como electrodo indicador un sensor potenciométrico para cobre comercializado por Metrohm. Las condiciones experimentales en las que se realizan estas valoraciones son idénticas a las empleadas en los experimentos anteriores.

La Figura 55.A muestra la curva de calibración de este sensor comercial y los resultados obtenidos en la valoración de 0.30 g/l del ácido húmico de Aldrich. La representación gráfica es similar a la obtenida cuando la valoración se realiza con el sensor potenciométrico DTS. Cuando se lleva a cabo la modelización de estos resultados siguiendo el procedimiento descrito por Scatchard, de nuevo en vez de una línea recta se obtiene una curva cóncava (Figura 55.B). Por tanto, se obtiene una constante de estabilidad correspondiente a la posición de enlace más fuerte ( $K_1$ ) y otra que corresponde a la posición de enlace más débil ( $K_2$ ) de los iones cobre (II) en el ácido húmico, cuyos valores se muestran



en la Tabla 22. La gran similitud entre estos resultados y los obtenidos en las valoraciones realizadas con el sensor potenciométrico DTS indican la correcta aplicación del sensor desarrollado en esta memoria para realizar estudios de complejación entre los cationes metálicos y la materia orgánica.



**Figura 55.** Resultados obtenidos con el sensor potenciométrico comercial de iones cobre (II) comercializado por Metrohm.

**A–** Respuesta potenciométrica de los iones cobre (II) en ausencia (●) y en presencia (□) de una disolución de ácido húmico comercial Aldrich en concentración 0.30 g/l, a pH 6.0 y fuerza iónica constante.

**B–** Representación gráfica siguiendo el modelo propuesto por Scatchard de la valoración de ácido húmico comercial Aldrich de la Figura A.

**Tabla 22.** Resultados experimentales de las constantes de estabilidad condicionales de los complejos formados entre los iones cobre (II) y los ácidos húmicos comerciales investigados, obtenidos con dos sensores potenciométricos distintos.

Sensor	Húmico Aldrich (A)		Húmico Fluka (F)	
	$\log K_1$	$\log K_2$	$\log K_1$	$\log K_2$
DTS	8.39	5.17	8.45	5.43
Comercial	8.49	5.39	8.54	5.32

En la complejación de los cationes metálicos con los ácidos húmicos, las posiciones de enlace más fuerte y débiles se asocian a distintos grupos funcionales presentes en las moléculas de ácido húmico. En el caso de los iones cobre (II) estas posiciones de enlace se relacionan principalmente con grupos funcionales que contiene átomos de oxígeno (carboxílicos y fenólicos) y grupos funcionales con átomos de nitrógeno (aminas) [172-174]. Debido a que los grupos funcionales con mayor presencia en las sustancias húmicas son los que contienen oxígeno, normalmente se asocia la constante de estabilidad de la posición de enlace más fuerte a estos grupos funcionales. A pesar de que los iones cobre (II) muestren mayor afinidad hacia los átomos de nitrógeno, la posición de enlace más débil se asocia a los grupos funcionales que contienen este átomo [175]. Se espera que los valores más altos de la primera y segunda constante de estabilidad pertenezcan a los ácidos húmicos con mayores porcentajes de oxígeno y nitrógeno, respectivamente.

El ácido húmico natural MC es el que posee mayor cantidad de oxígeno en su composición elemental (Tabla 20), por lo que se espera que posea el valor más alto de la primera constante de estabilidad para los iones cobre (II). Del mismo modo los valores de la segunda constante de estabilidad de los ácidos húmicos comerciales con respecto a las obtenidas por los ácidos húmicos naturales se supone que deberían ser significativamente inferiores ya que el contenido en nitrógeno de los ácidos húmicos natural es hasta 14 veces superior que el de los comerciales, según muestran los resultados de la Tabla 20.

Cuando se comparan los valores de las constantes de estabilidad de los ácidos húmicos y los iones cobre (II), no se obtienen ninguno de los resultados esperados en principio. El ácido húmico con mayor porcentaje de oxígeno no es el que tiene el mayor valor de la primera constante de estabilidad. De hecho, a pesar que el ácido húmico comercial de Aldrich y el natural de SMV tienen porcentajes de oxígeno muy similares, poseen el menor y mayor valor de la constante de disociación asociada a la posición de enlace más fuerte, respectivamente. En el caso de la posición de enlace más débil, los valores de las constantes de estabilidad de los dos ácidos húmicos comerciales y del ácido húmico natural MC son muy similares a pesar de las grandes diferencias observadas en la composición elemental de nitrógeno.

Plaza y col. [173] obtienen resultados similares cuando estudian la interacción entre los iones cobre (II) y una serie de ácidos húmicos de composición y propiedades químicas conocidas. Calculan la capacidad complejante y las constantes de estabilidad de los complejos e intentan correlacionar estos resultados con características químicas y fisicoquímicas de estas sustancias. Este análisis de regresión lo realizan, entre otros, con el contenido en carbono, hidrógeno, nitrógeno, azufre y oxígeno, con la acidez total, con el porcentaje de carbonos aromáticos, de grupos carbonilos, grupos carboxílicos y fenólicos, concentración de radicales libres, etc, pero en ningún caso obtienen una relación significativa entre estos valores y las constantes de estabilidad. Así, sugieren que en la interacción de estos iones metálicos con la sustancias húmicas además de los impedimentos estéricos juegan un papel muy importante una combinación de parámetros químicos y fisicoquímicos.

Por tanto, dependiendo de la estructura de la molécula del ácido húmico en cuestión y de las condiciones experimentales en las que se realiza el estudio quizá no todos los grupos reactivos presentes están disponibles para enlazar con los iones metálicos. Por ejemplo, un grupo reactivo puede complejar al metal, pero si muy próximo a él hay otro grupo funcional, quizá este último no pueda enlazar a ningún metal por competencia con los protones de la disolución o por impedimentos estéricos. También puede suponerse que un mismo átomo de metal se enlace a la vez con más de un grupo funcional del ácido húmico formando complejos de estequiometría distinta a la 1:1.

**Tabla 23.** Constantes de estabilidad de los complejos formados entre los iones cobre (II), mercurio (II) y plomo (II) y los ácidos húmicos.

Complejo	$\log K_1$	$\log K_2$	Referencia
Cu-húmico	9.70	---	[89]
Cu-húmico	---	5.48 – 6.30	[170]
Cu-húmico	7.89	5.45	[161]
Cu-húmico	---	5.86 – 6.71	[162]
Pb-húmico	5.5	---	[177]
Pb-húmico	6.3	4.9	[178]
Hg-húmico	11.5 – 11.8	8.7 – 7.3	[19]
Hg-húmico	10.7	---	[179]

A pesar de la dificultad en la comparación de las constantes de estabilidad condicionales de los complejos cobre-ácido húmico, los valores obtenidos en este estudio son muy similares a los de otros trabajos realizados en condiciones experimentales similares. Algunos de estos datos se reflejan en la Tabla 23 [89, 170, 161, 162].

#### *Constantes de estabilidad plomo-ácidos húmicos*

Los valores de las constantes de estabilidad de los complejos formados entre los ácidos húmicos y los iones plomo (II) son muy similares, para los cuatro ácidos húmicos investigados. En este caso podría también asociarse la posición de enlace más fuerte y más débil a grupos funcionales que contienen oxígeno y nitrógeno, respectivamente. Pero, teniendo en cuenta la gran afinidad del plomo por el oxígeno y que este elemento es el que se encuentra en mayor proporción en el ácido húmico, quizá sea mejor asociar el enlace más fuerte y el más débil a los grupos carboxílicos y fenólicos que poseen las sustancias húmicas, respectivamente.

Los resultados reflejados en esta memoria se han comparado con anteriores estudios de interacción de los ácidos húmicos con los iones plomo (II). Pitluck y col. [176] utilizan también el método de Scatchard para calcular las constantes de estabilidad de los complejos

que forman los ácidos húmicos y el níquel, cadmio y plomo entre otros metales. En el caso de los iones plomo (II) no obtiene óptimos resultados por la baja sensibilidad y alto límite de detección de estos cationes en el detector empleado. Por tanto, solamente puede calcular la constante de estabilidad asociada a la posición de enlace más débil debido a la imposibilidad de detectar bajas concentraciones de plomo (II) [176]. Aunque es muy difícil comparar resultados de distintos trabajos, los valores de las constantes de estabilidad para los iones plomo (II) mostradas en esta memoria son similares a los estimados en otros estudios de interacción realizados en condiciones experimentales similares para los iones plomo (II) y las sustancias húmicas (Tabla 23) [177, 178].

#### *Constantes de estabilidad mercurio-ácidos húmicos*

Los valores de las constantes de estabilidad del mercurio con los dos ácidos húmicos comerciales utilizados en este estudio son superiores a los obtenidos para los dos húmicos naturales procedentes de sedimentos de río. Además, como ocurre para los iones plomo (II) y cobre (II) no hay una clara relación entre la composición elemental de estos ácidos y las constantes de estabilidad estimadas.

Entre los grupos funcionales presentes en los ácidos húmicos se encuentran grupos que contienen átomos de azufre. Los iones mercurio (II) forman enlaces covalentes con los sulfuros, por lo que se produce un enlace de gran fortaleza entre el mercurio y estos grupos reactivos. Por tanto, se supone que la constante de estabilidad asociada a la posición de enlace más fuerte para los iones mercurio (II) es debida a la complejación con estos grupos funcionales. Sin embargo, el intervalo de valores de las constantes termodinámicas de formación de complejos de estequiometría 1:1 que forman los iones mercurio (II) y moléculas orgánicas de bajo peso molecular que contienen un grupo funcional con un átomo de azufre, es de  $\log K = 34.5$  a  $38.3$  [17]. Estos valores son muy elevados comparándolos con los resultados obtenidos para la primera constante de estabilidad de los ácidos húmicos y los iones mercurio (II).

Por otra parte, los grupos funcionales más abundantes en los ácidos húmicos son los carboxílicos y fenólicos con una relación molar 200:1 entre los grupos que contienen átomos

de oxígeno y azufre [16, 17]. Además, recientemente se ha descubierto que solo una pequeña fracción (aproximadamente el 2%) de las posiciones de enlace del ácido húmico que tienen sulfuros, participan en el enlace con el mercurio [16-18, 179]. Así, los grupos funcionales que contienen sulfuros se saturan cuando se añaden concentraciones pequeñas de mercurio (entorno a  $1.0 \times 10^{-7}$  y  $1.0 \times 10^{-6}$  M) a la disolución que contiene el ácido húmico. Entonces, en las valoraciones potenciométricas de los ácidos húmicos con los iones mercurio (II) reflejadas en esta memoria, se produce la saturación de los grupos funcionales que contienen azufre nada más comenzar la valoración. Una vez producida esta saturación, el resto de los iones mercurio (II) adicionados se unen a otros grupos funcionales presentes en las moléculas del ácido húmico, como los que contienen átomos de oxígeno y de nitrógeno [16-18, 179, 180].

Teniendo en cuenta las concentraciones de mercurio empleadas en los experimentos realizados con las sustancias húmicas, las constantes de estabilidad calculadas para el mercurio y los ácidos húmicos para la posición de enlace más fuerte y la más débil probablemente se deben a interacciones con grupos carboxílicos, fenólicos y amina de estos ácidos. De hecho, los valores de las constantes termodinámicas de formación de los complejos de mercurio (II) con el ácido oxálico (grupos carboxílicos) y metilamina (grupo amina)  $\log K = 9.7$  y  $8.7$ , respectivamente [17], son muy similares a los de las constantes de estabilidad experimentales mostrados en la Tabla 21 de esta memoria. Además se comparan los datos de esa tabla con los calculados por otros autores (Tabla 23), obteniendo resultados similares [19, 179], que en estos otros casos asocian principalmente a las interacciones de los iones mercurio (II) con los grupos carboxílicos y fenólicos de los ácidos húmicos.

### **V. 3. ANÁLISIS POTENCIOMÉTRICO POR INYECCIÓN EN FLUJO.**

Debido al amplio uso de cobre, y a que en los últimos años ha seguido aumentando la concentración de este metal en medios naturales debido a la actividad humana, se ha incrementado el interés de encontrar nuevas formas de análisis en continuo de cobre con el fin de vigilar posibles contaminaciones en el medioambiente y controlar procesos industriales.

El objetivo del presente apartado es mostrar la utilidad de los sensores potenciométricos investigados en el análisis en continuo de cationes metálicos. Entre los sensores desarrollados se ha elegido el sensor modificado con el ligando TETDS para la determinación de los iones cobre (II), por ser quizá el sensor potenciométrico que muestra mejores características analíticas entre todos los ensayados.

#### **V. 3. 1. Análisis potenciométrico en continuo.**

En el Análisis Potenciométrico por Inyección en Flujo, FIP (“Flow Injection Potentiometry”), la medida potenciométrica se lleva a cabo en continuo, según va pasando el flujo de disolución de análisis por la superficie del electrodo indicador. El empleo de esta técnica de análisis permite disfrutar de todas las ventajas de la potenciometría como la rapidez, facilidad y economía del análisis, el amplio intervalo de concentraciones en las que se puede determinar el analito y la posibilidad de realizar el análisis sin llevar a cabo ningún pretratamiento a la muestra, entre otras. Además, como el análisis se realiza en continuo, esta técnica de análisis ha encontrado multitud de aplicaciones. Destacan su utilización en el control y vigilancia de la concentración de determinadas especies en la industria farmacéutica y sus aplicaciones en química clínica debidas a la posibilidad de miniaturizar los dispositivos de medida [181-184].

El empleo de esta técnica de análisis presenta una serie de ventajas frente al tradicional análisis en discontinuo realizado con los sensores potenciométricos. En el análisis potenciométrico en continuo se obtiene una mayor reproducibilidad y precisión en la respuesta potenciométrica. Además, para realizar la determinación de la concentración de un

analito son necesarios menores volúmenes de muestra. Cabe destacar que en estos análisis se suelen producir mejoras en la selectividad de la respuesta hacia el analito de interés con respecto al análisis en discontinuo, debido a las diferencias cinéticas de la respuesta de los iones interferentes frente al ión principal. La principal desventaja del empleo de esta técnica es el aumento de los límites de detección observados con respecto a las medidas realizadas en discontinuo con los mismos sensores potenciométricos. De todos modos, al igual que en el análisis en estático, el éxito de la determinación depende fundamentalmente del sensor potenciométrico elegido para realizar la medida [181, 183, 185].

A pesar de que la mayor parte de los sensores potenciométricos son de membrana líquida, sólo unos pocos se han utilizado para realizar los análisis en continuo. Esto se debe principalmente a la fragilidad de la membrana y a la estructura del electrodo, características que no les hacen ser apropiados para el análisis en flujo. Por tanto, la mayoría de los sensores potenciométricos utilizados en esta técnica suelen ser de contacto sólido por su robustez y fácil adaptación a las características de flujo de la célula de medida [181]. Los electrodos modificados de pasta de carbón se encuentran entre los sensores de contacto sólido utilizados para realizar estas medidas potenciométricas en continuo [100, 103].

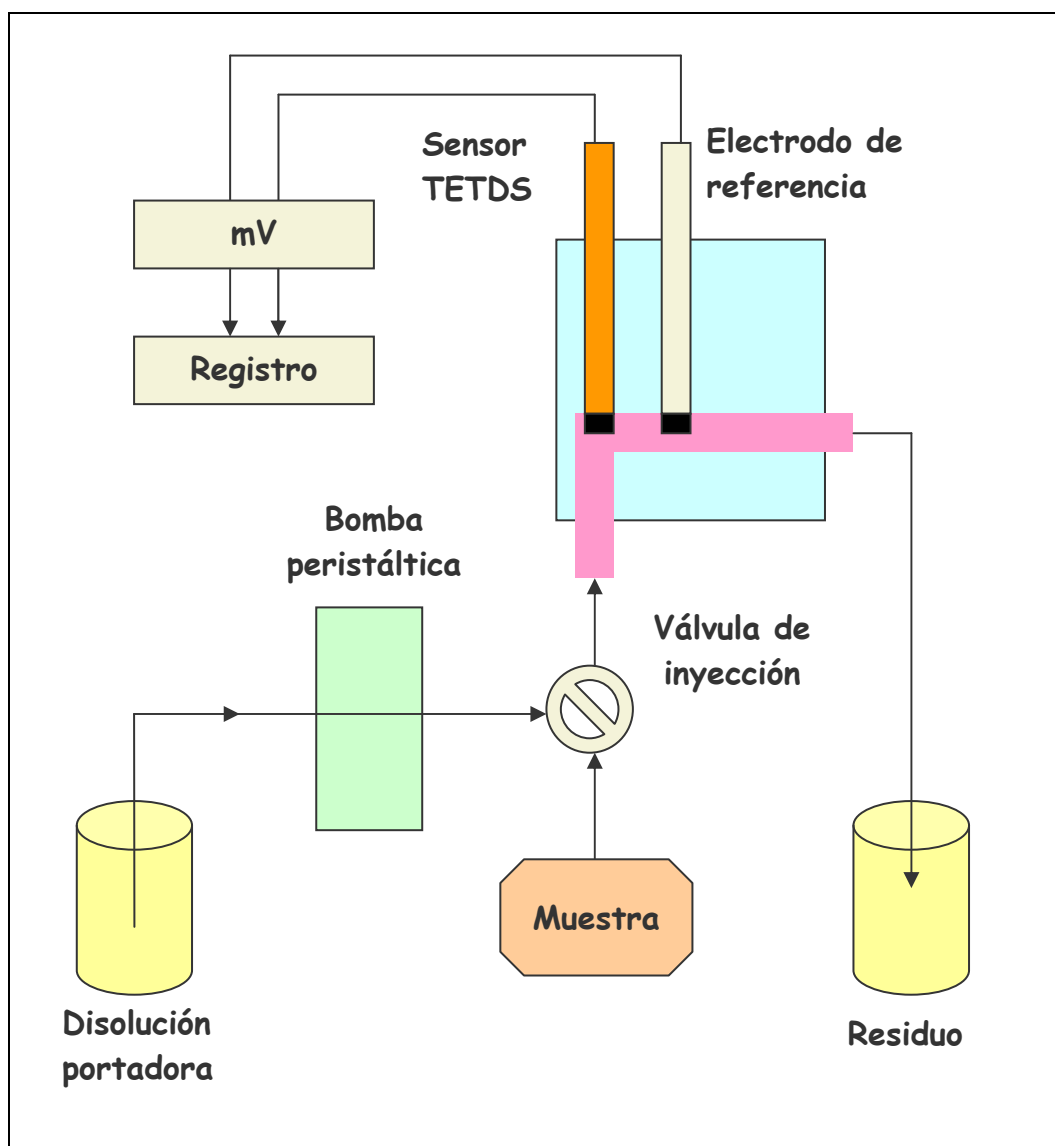
#### V. 3. 2. Componentes del sistema de análisis potenciométrico en continuo.

Las medidas potenciométricas en continuo se realizan utilizando el sistema de análisis esquematizado en la Figura 56. El sistema está formado por los siguientes componentes:

- Depósito, donde se encuentra la disolución portadora. El transporte de esta disolución a lo largo de todo el sistema se realiza a través de un tubo de dimensiones apropiadas.
- Bomba peristáltica, que establece un flujo de caudal constante de la disolución portadora.
- Válvula de inyección, que permite introducir en el flujo un volumen exactamente medido de la muestra con gran reproducibilidad de operación y sin interrumpir el mismo. Para la medida de las muestras se utilizan bucles de distintos volúmenes.



- Célula de flujo, donde se incorporan el sensor potenciométrico y el electrodo de referencia para realizar la medida del potencial.
- Registro, donde se representa la señal potenciométrica en función del tiempo.
- Depósito de desecho, donde se recoge el flujo que sale del sistema.



**Figura 56.** Esquema del sistema de análisis de potenciométrico de inyección en flujo utilizado.

#### V. 3.3. Empleo del sensor TETDS en el análisis potenciométrico en continuo de los iones cobre (II).

##### V. 3.3.1. Optimización de los parámetros de flujo.

Para llevar a cabo la determinación de los iones cobre (II) en continuo mediante potencimetría, en primer lugar hay que caracterizar la respuesta del sensor potenciométrico utilizado y fijar los parámetros de flujo para realizar la medida en las condiciones óptimas. El sensor potenciométrico que se va a utilizar es el modificado con el ligando TETDS, cuya caracterización se ha descrito en el capítulo IV de esta memoria. Entre los parámetros del flujo objeto de estudio para elegir las condiciones óptimas de medida se encuentra la composición de la disolución portadora, la longitud del tubo, la velocidad de flujo, el volumen de muestra y la frecuencia de análisis.

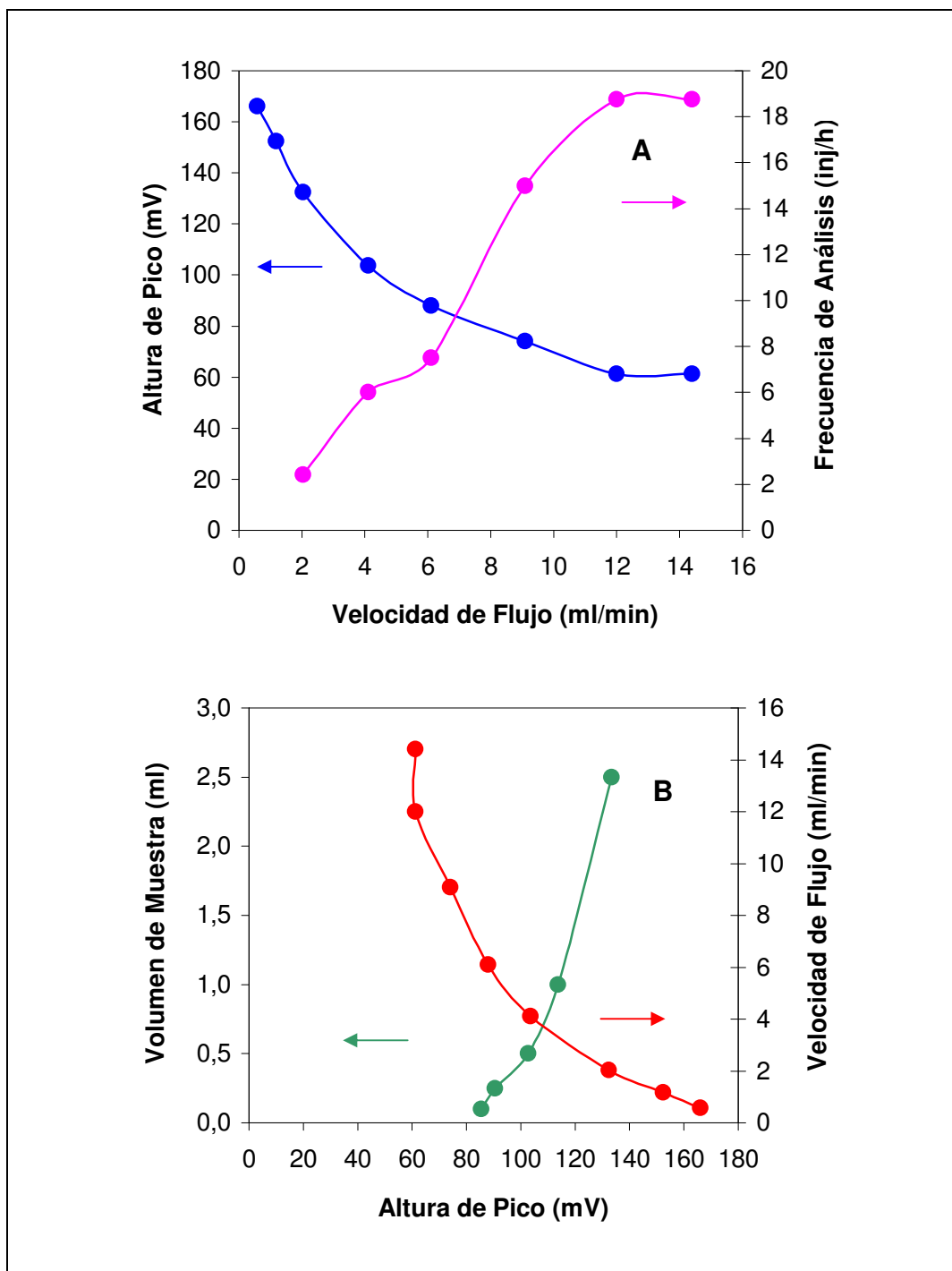
La composición de la disolución portadora afecta a la estabilidad de la respuesta del sensor potenciométrico. Las medidas potenciométricas se realizan en disoluciones que contienen un electrolito soporte a un determinado valor de pH, para evitar posibles variaciones en la respuesta potenciométrica por cambios de este parámetro. La disolución portadora elegida en este estudio contiene el mismo electrolito soporte y la misma disolución reguladora de pH, que el empleado en las determinaciones en estático de cobre (II) con el sensor TETDS, con las que se obtienen óptimos resultados analíticos. Por tanto, la composición de la disolución portadora es de  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0). En estas condiciones no se observan variaciones de la línea base.

La longitud del tubo que conecta el inyector con la célula del detector es un parámetro fundamental, ya que cuanto mayor es su longitud, mayor es el coeficiente de dispersión, mayor es la anchura de pico de las señales y mayor es el tiempo necesario para que comience la aparición del pico [186]. Por tanto, para conseguir la mínima dispersión en las señales y mayor velocidad de análisis, la longitud del tubo que conduce la muestra desde la válvula de inyección hasta la célula de medida debe ser la mínima posible. En este caso, se utiliza un tubo de 0.3 mm de diámetro interno, cuya longitud es de 25 cm, la mínima imprescindible para realizar la conexión.

La altura y la anchura de pico de la señal potenciométrica depende de la velocidad de flujo seleccionada y del volumen de inyección de muestra. La anchura de pico esta relacionada con el tiempo en que tarda la señal en recuperar la línea base, y por tanto es una forma de determinar el número de muestras que pueden analizarse por unidad de tiempo en un determinado sistema en continuo (frecuencia de análisis). La altura de pico puede relacionarse con el límite de detección de la técnica, siempre que un aumento de la señal no lleve implicado un aumento del ruido de la línea base. Así, cuanto mayor sea la relación señal/ruido (altura de pico frente variación del potencial de la línea base) menor será el límite de detección obtenido.

Para ver la influencia de la velocidad de flujo en la altura y en la anchura de pico, se realizan las determinaciones de disoluciones de cobre (II) en actividad  $2.16 \times 10^{-5}$  M, a distintas velocidades de flujo (0.58 - 14.4 ml/min), para un volumen constante de inyección de muestra de 1.00 ml. Como muestra la Figura 57.A, a medida que aumenta la velocidad de flujo se obtienen menores señales potenciométricas (disminuye la altura de pico). Cuanto menor es la altura de pico, la recuperación de la línea base de la señal (tiempo de retorno) es más rápida y antes puede realizarse una nueva inyección de muestra. Por tanto, cuanto mayor es la velocidad de flujo, mayor es la frecuencia de análisis. A la vista de estos resultados, debemos llegar a una situación de compromiso para la selección de estos parámetros.

Otro factor que influye en la respuesta potenciométrica es el volumen de inyección de muestra. Para ver la dependencia de este parámetro se realizan inyección de cobre (II) de actividad  $2.16 \times 10^{-5}$  M a velocidad de flujo constante (4.1 ml/min), variando el volumen de inyección desde 0.100-2.50 ml. Como se observa en la Figura 57.B, la altura de pico aumenta cuanto mayor es el volumen de muestra inyectado, pero también aumenta el tiempo de retorno y por tanto, disminuye la frecuencia de análisis.



**Figura 57.** Influencia de la velocidad de flujo y del volumen de muestra en la altura de pico y frecuencia de análisis. Inyecciones de cobre (II)  $2.16 \times 10^{-5}$  M utilizando como disolución portadora  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0), velocidad de flujo 4.1 ml/min y volumen de muestra 1.00 ml.  
**A**– Efecto de la velocidad de flujo en la altura de pico (●) y en la frecuencia de análisis (●).  
**B**– Variación de la altura de pico en función del volumen de muestra (●) y de la velocidad de flujo (●).

**Tabla 24.** Parámetros óptimos seleccionados para el análisis potenciométrico en continuo de los iones cobre (II) con el sensor TETDS.

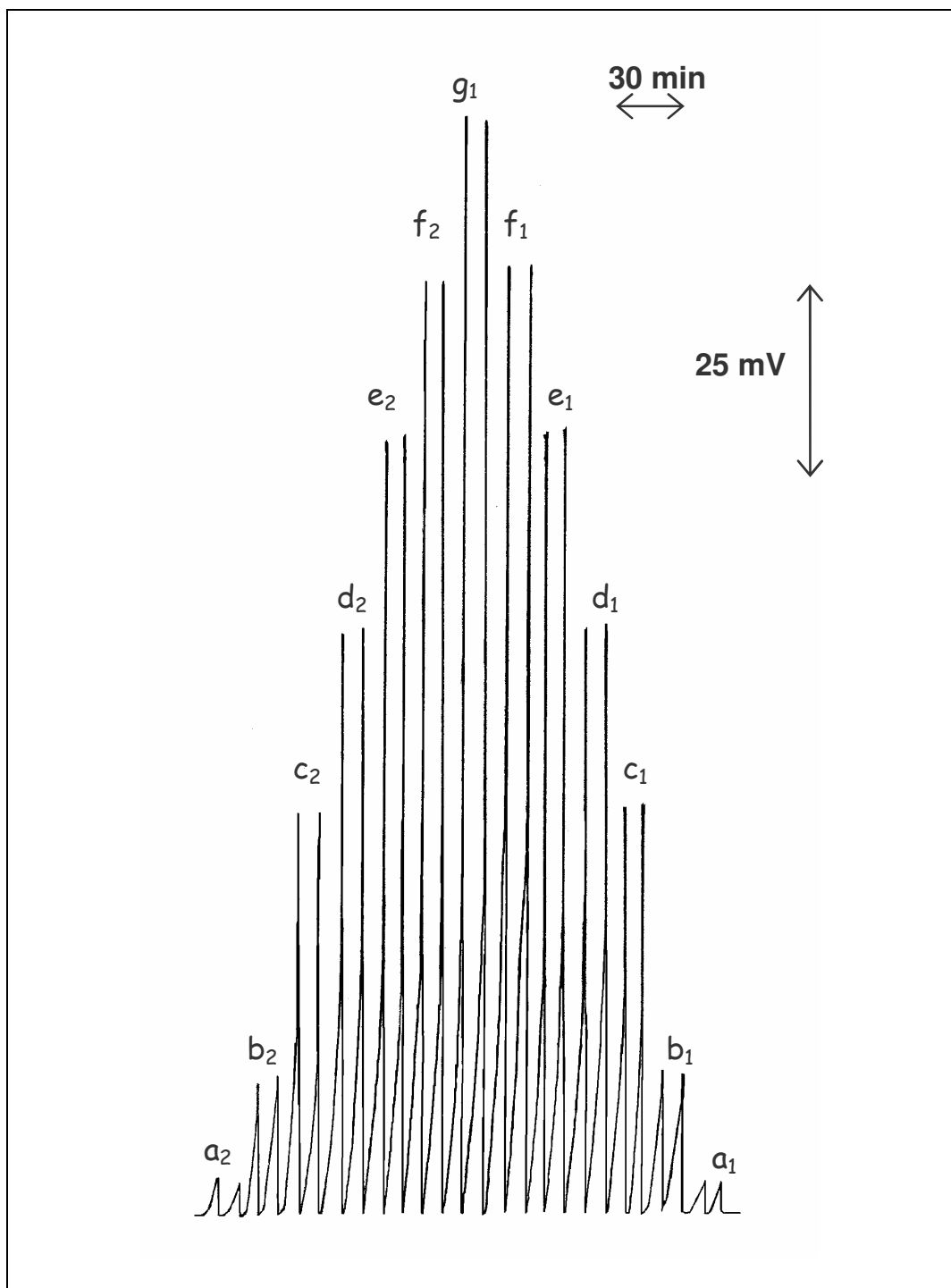
<b>Velocidad de flujo</b>	4.1 ml / min
<b>Volumen de inyección de muestra</b>	0.500 ml
<b>Frecuencia de análisis</b>	6 inyecciones /hora
<b>Diámetro/longitud del tubo</b>	0.3 mm / 25 cm
<b>Disolución portadora</b>	NaNO <sub>3</sub> 0.1 M, PIPES 0.01 M (pH 6.0)

De acuerdo con los ensayos realizados, para obtener los mejores resultados en el análisis potenciométrico en continuo de los iones cobre (II) con el sensor TETDS, se eligen las condiciones reflejadas en la Tabla 24.

#### V. 3.3.2. Intervalo lineal, sensibilidad y selectividad de la respuesta al cobre (II) del sensor TETDS en FIP.

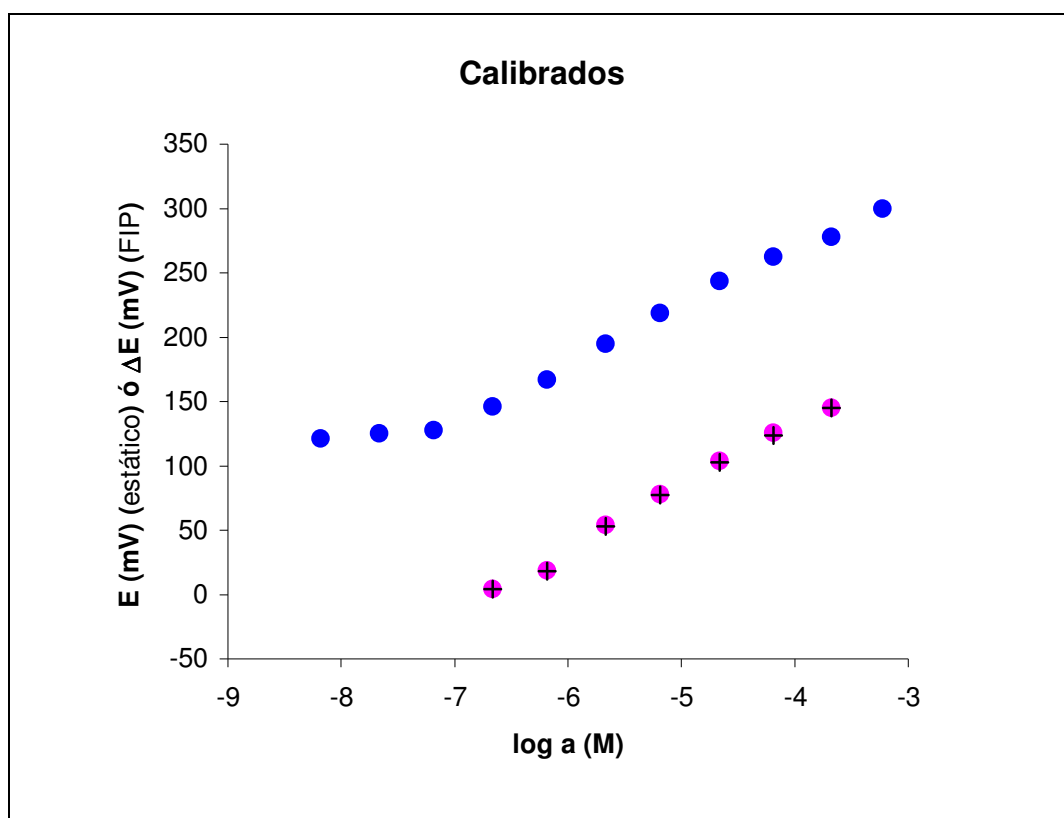
En la detección potenciométrica en continuo la característica más desfavorable es la baja respuesta del potencial del electrodo que se produce con los cambios de concentración. La pequeña variación en la respuesta que suelen presentar los sensores potenciométricos es una buena razón para la utilización de electrodos con comportamientos super-Nernstianos para la detección en sistemas en continuo [187].

En la Figura 58 se muestran las señales potenciométricas obtenidas cuando se realiza la inyección de disoluciones de cobre (II) de actividades comprendidas entre  $2.17 \times 10^{-7}$  y  $2.10 \times 10^{-4}$  M. La repetitividad de la respuesta potenciométrica es excelente con variaciones inferiores a  $\pm 1$  mV en las alturas de pico registradas en inyecciones repetidas de la misma muestra.



**Figura 58.** Señales potenciométricas para dos inyecciones repetidas de disoluciones patrón de cobre (II) de actividades  $2.17 \times 10^{-7}$  M ( $a_1$ ,  $a_2$ ),  $6.49 \times 10^{-7}$  M ( $b_1$ ,  $b_2$ ),  $2.16 \times 10^{-6}$  M ( $c_1$ ,  $c_2$ ),  $6.49 \times 10^{-6}$  M ( $d_1$ ,  $d_2$ ),  $2.16 \times 10^{-5}$  M ( $e_1$ ,  $e_2$ ),  $6.43 \times 10^{-5}$  M ( $f_1$ ,  $f_2$ ),  $2.10 \times 10^{-4}$  M ( $g_1$ ). Condiciones: 4.1 ml/min, volumen de inyección 0.500 ml, disolución portadora  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0).

La curva de calibración obtenida cuando se utiliza el sensor TETDS para realizar la medida potenciométrica en sistemas en discontinuo y en continuo se muestra en la Figura 59. El **intervalo de respuesta lineal** obtenido en la detección en continuo cuando la inyección de las disoluciones de cobre (II) se realiza en orden creciente o decreciente es el mismo en ambos casos y se encuentra comprendido entre  $2.17 \times 10^{-7}$  a  $2.10 \times 10^{-4}$  M, en actividad de cobre (II) (Tabla 25). Cuando las medidas se realizan en estático este intervalo se amplía para actividades de cobre (II) comprendidas entre  $6.61 \times 10^{-8}$  a  $6.17 \times 10^{-4}$  M. La pendiente de la recta de calibrado obtenida en la determinación en flujo no dependen del orden en la que se realice la inyección y tiene un valor superior al obtenido en la determinación potenciométrica de los iones cobre (II) en discontinuo (Tabla 25). Por tanto, es mayor la sensibilidad alcanzada en el análisis en continuo.



**Figura 59.** Curvas de calibrado del sensor potenciométrico TETDS en función del logaritmo de la actividad de cobre (II) cuando se realizan las determinaciones en discontinuo (●) y en continuo ((+))– inyección en orden creciente de actividad, (+)– inyección en orden decreciente de actividad).

**Tabla 25.** Intervalo de respuesta lineal, sensibilidad y límite de detección del sensor TETDS para la determinación de cobre (II) en estático y en continuo (FIP).

	FIP	Estático
<b>Intervalo de respuesta lineal (<math>a_{Cu}</math>)</b>	$2.17 \times 10^{-7}$ a $2.10 \times 10^{-4}$ M	$6.61 \times 10^{-8}$ a $6.17 \times 10^{-4}$ M
<b>Sensibilidad (mV/década de actividad)</b>	49.0	43.1
<b>Límite de detección (<math>a_{Cu}</math>)</b>	$2.0 \times 10^{-7}$ M	$4.0 \times 10^{-8}$ M

El cálculo del **límite de detección** en el análisis potenciométrico en continuo se realiza de forma distinta que en los análisis en discontinuo. El método comúnmente empleado define el límite de detección como tres veces la desviación estándar del blanco dividido entre la sensibilidad [188]. El límite de detección obtenido por el sensor potenciométrico TETDS cuando se realiza la medida en continuo con un flujo de 4.1 ml/min y un volumen de inyección de muestra de 0.500 ml es de  $2.0 \times 10^{-7}$  M en actividad de los iones cobre (II), superior al obtenido cuando la medida se realiza en estático (Tabla 25).

Utilizando el mismo sensor potenciométrico, el análisis potenciométrico en continuo suele presentar una serie de ventajas frente a la determinación en discontinuo. Entre estas ventajas suele destacarse la mejora en la **selectividad de la respuesta potenciométrica** hacia el analito de interés. Para ver si se produce esta mejora de selectividades en el análisis en continuo de los iones cobre (II) con el sensor TETDS, se calculan los coeficientes de selectividad hacia algunos iones interferentes.

El cálculo se realiza empleando el método de las disoluciones conjuntas (MSM). Se preparan una serie de disoluciones que contienen la misma actividad del ión cobre (II) ( $2.16 \times 10^{-6}$  M) y distintas actividades de la especie interferente. Se determina la diferencia de altura de pico obtenidas en cada una de estas disoluciones con respecto a una disolución que solamente contiene el ión cobre (II) en actividad  $2.16 \times 10^{-6}$  M.



**Tabla 26.** Coeficientes de selectividad,  $\log K_{Cu,M}$ , calculados por el MSM del sensor potenciométrico de cobre (II) TETDS, cuando la medida se realiza en continuo (FIP) y en estático.

Interferente	FIP	Estático	Interferente	FIP	Estático
Na <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	Co <sup>2+</sup>	< -4.0	< -4.0
K <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	Mn <sup>2+</sup>	< -4.0	< -4.0
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	< -4.0	< -4.0	Pb <sup>2+</sup>	< -4.0	-3.35
Ca <sup>2+</sup>	< -4.0	< -4.0	Cd <sup>2+</sup>	< -4.0	-3.60
Mg <sup>2+</sup>	-3.22	-1.15	Hg <sup>2+</sup>	-0.03	1.46
Zn <sup>2+</sup>	< -4.0	< -4.0	Cr <sup>3+</sup>	< -4.0	-3.67
Ba <sup>2+</sup>	< -4.0	< -4.0	Al <sup>3+</sup>	-2.87	-2.08
Ni <sup>2+</sup>	< -4.0	-1.64	Fe <sup>3+</sup>	-1.12	1.33

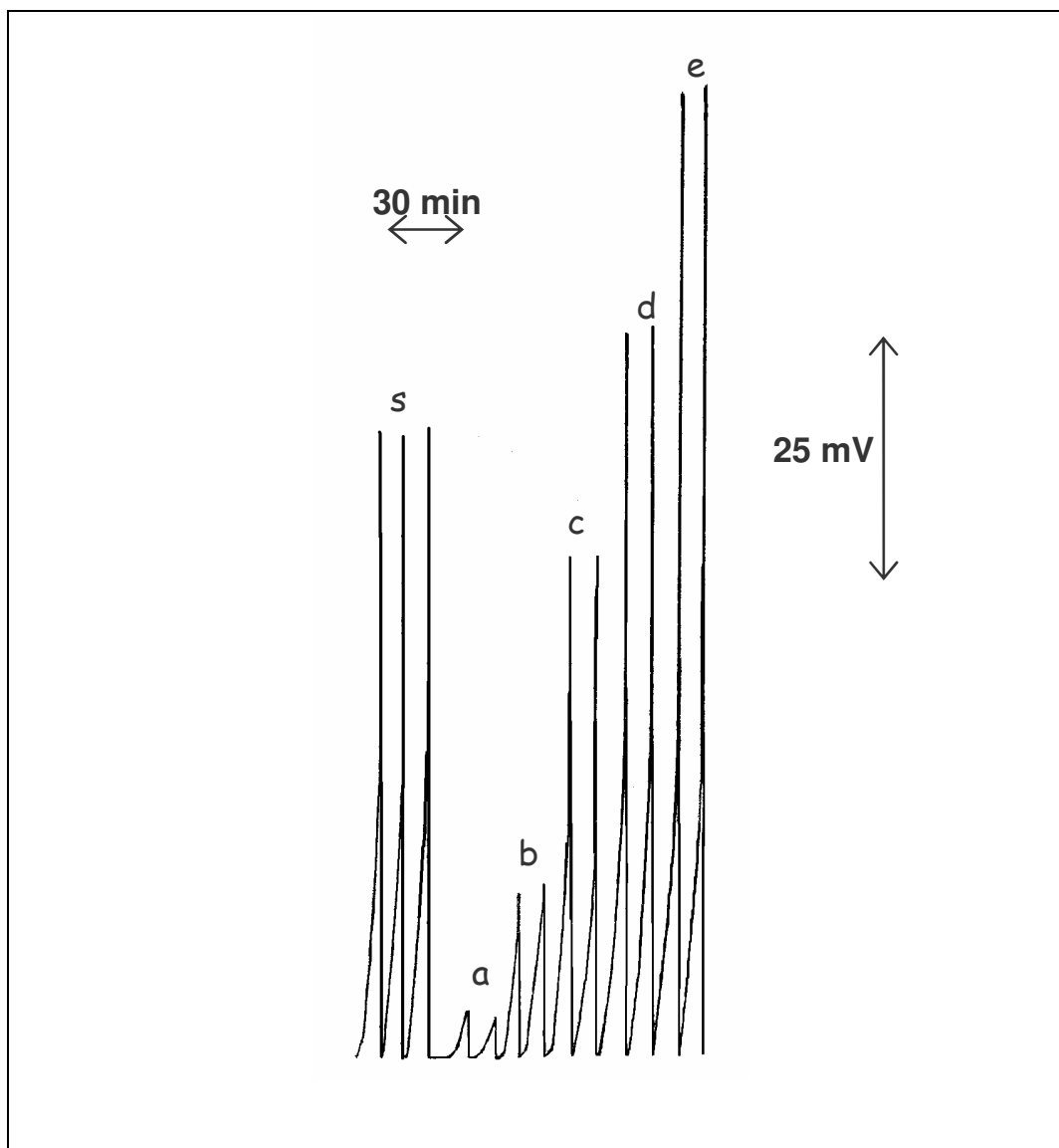
En la Tabla 26 se comparan los valores de los coeficientes de selectividad de este sensor calculados por el MSM cuando la medida potenciométrica se realiza en continuo, con los valores obtenidos por este mismo método cuando la medida se realiza en discontinuo. Para todos los iones interferentes ensayados la selectividad de la respuesta potenciométrica del sensor TETDS hacia los iones cobre (II) mejora en el análisis en continuo. Por ejemplo, en este análisis, la respuesta potenciométrica del sensor TETDS se ve influenciada por la presencia de hierro (III) y mercurio (II) en la disolución solamente si están presentes en concentración superior a la de los iones cobre (II). La mejora obtenida en los coeficientes de selectividad en las medidas en continuo puede asociarse a las diferentes cinéticas de respuesta que presentan el ión cobre (II) y los iones interferentes en esta técnica.

#### V. 3.3.3. Aplicaciones del sensor TETDS en el análisis de cobre (II) mediante FIP.

El sensor modificado con el ligando TETDS se empleo en el análisis en continuo para determinar la concentración de los iones cobre (II) en muestras reales con diferentes matrices.

En primer lugar se lleva a cabo el **análisis de cobre (II) en una muestra de agua de consumo**. La concentración de cobre (II) presente en la muestra se encuentra por debajo del límite de detección tanto si se analiza por potenciométrica como por espectrofotometría de

absorción atómica. Para realizar el análisis en FIP la muestra se dopa con disolución de cobre (II) de tal modo que la actividad de dicho ión en la disolución es  $4.38 \times 10^{-6}$  M. En la Figura 60 se muestran los picos potenciométricos obtenidos en las tres inyecciones realizadas de la muestra. A partir de estas señales y con los datos de calibración se obtiene una actividad de los iones cobre (II) en la muestra de  $(4.4 \pm 0.1) \times 10^{-6}$  M, que corresponde con la cantidad de cobre adicionada a la muestra.



**Figura 60.** Señales potenciométricas para tres inyecciones repetidas de una muestra de agua de consumo dopada (s) con una actividad de cobre (II)  $4.38 \times 10^{-6}$  M y para dos inyecciones repetidas de disoluciones patrón de actividades  $2.17 \times 10^{-7}$  M (a),  $6.49 \times 10^{-7}$  M (b),  $2.16 \times 10^{-6}$  M (c),  $6.49 \times 10^{-6}$  M (d) y  $2.16 \times 10^{-5}$  M (e). Condiciones: 4.1 ml/min, volumen de inyección 0.500 ml, disolución portadora  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0).

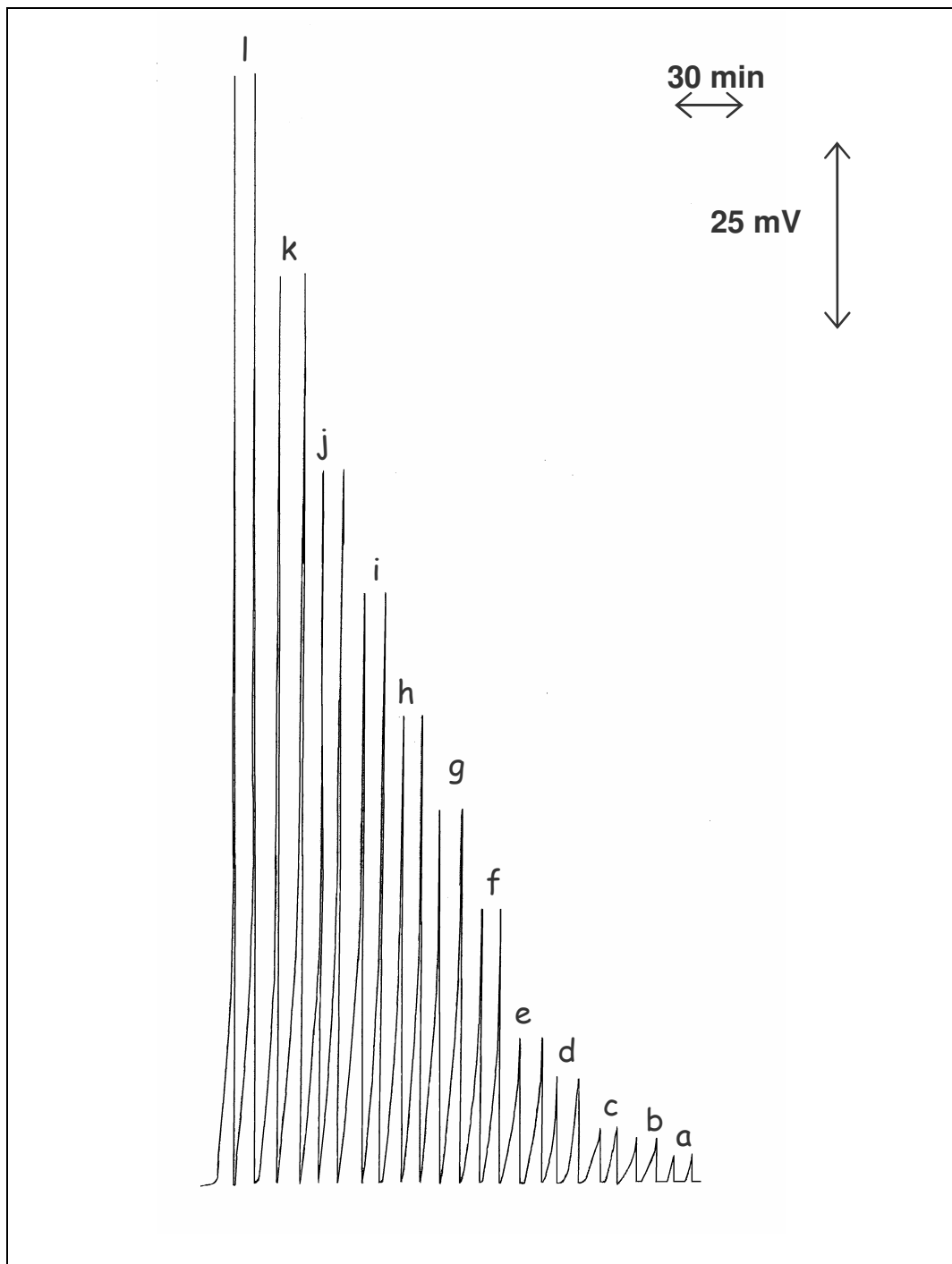
También se realiza el análisis de cobre (II) en continuo para realizar **el cálculo de las constantes de interacción entre el ácido húmico comercializado por Aldrich y los iones cobre (II)**. Se preparan una serie de disoluciones que contienen una concentración de ácido húmico 0.30 g/l, distintas concentraciones de cobre (II) comprendidas entre  $1.00 \times 10^{-6}$  M y  $1.00 \times 10^{-3}$  M y  $\text{NaNO}_3$  0.1M y PIPES 0.01 M (pH 6.0) para mantener constante la fuerza iónica y el pH. Los picos potenciométricos obtenidos se muestran en la Figura 61.

Con este mismo sensor potenciométrico y en las mismas condiciones de pH y fuerza iónica, pero realizando la medida en discontinuo, se valora una disolución de concentración 0.30 g/l del ácido húmico comercial Aldrich con los iones cobre (II) siguiendo el procedimiento descrito en el apartado III. 2.5. de esta memoria. En las Figuras 62.A y 62.B se representan las curvas de valoración y las curvas de calibrado obtenidas en cada uno de los dos experimentos. En ambos casos, se obtienen curvas con forma de sigmoide, típicas de valoraciones potenciométricas.

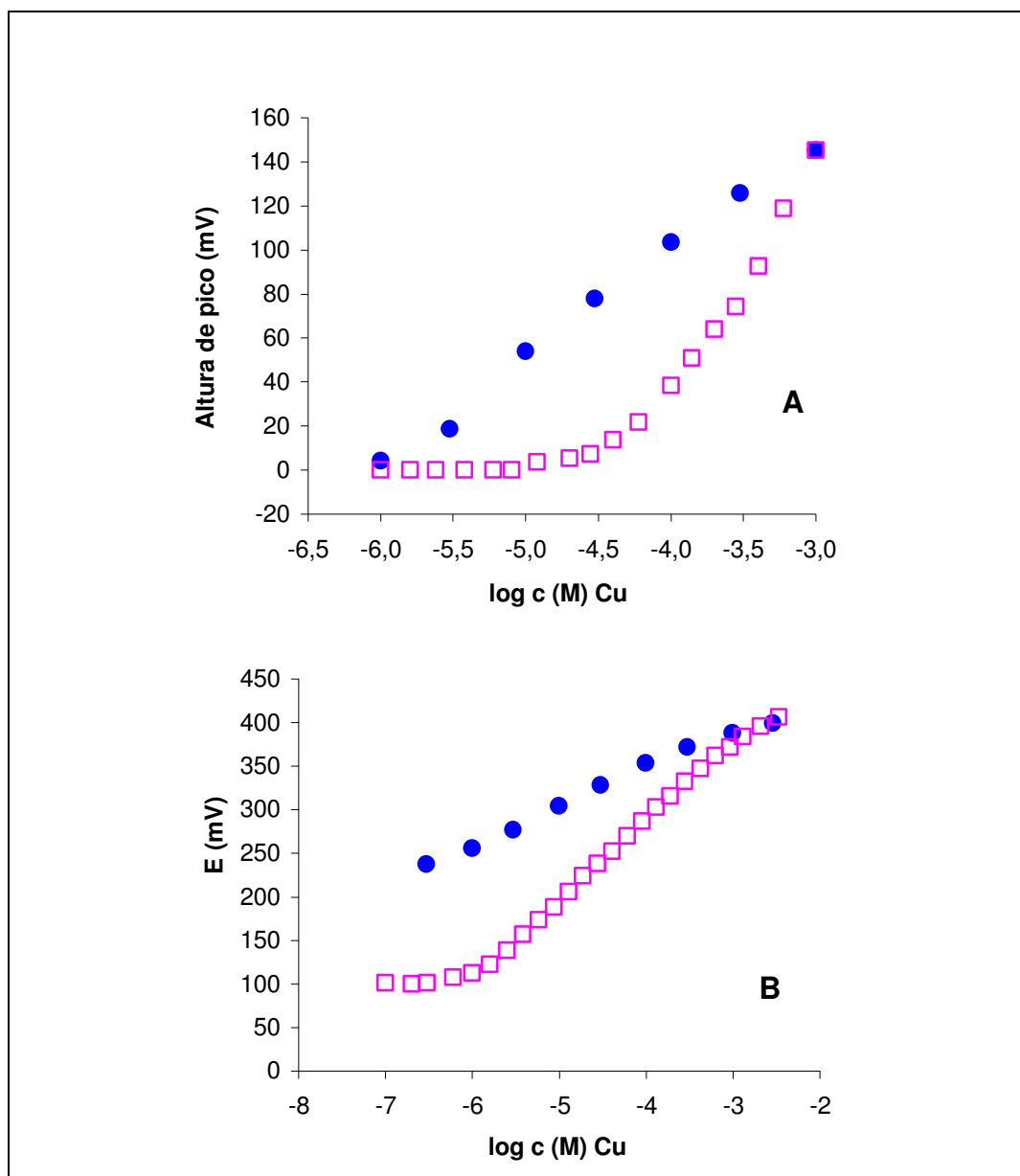
Los datos procedentes de ambas valoraciones se emplean para realizar una estimación de las constantes de estabilidad del ácido húmico con los iones cobre (II) siguiendo el método propuesto por Scatchard. Las representaciones de Scatchard de ambas valoraciones se muestran en las Figuras 63.A y 63.B. En la modelización de los datos procedentes del análisis potenciométrico en continuo se obtiene una línea recta, lo que indica que sólo se detecta una posible posición de enlace donde los iones cobre (II) se enlazan con el ácido húmico, y por tanto una única constante de estabilidad. En cambio, con los resultados de la valoración en discontinuo se obtiene una curva cóncava que indica la posibilidad de más de una posible posición de enlace, como se comentó en el apartado V. 2.2.4.

Las diferentes representaciones obtenidas en las Figuras 63.A y 63.B se deben a los diferentes límites de detección que presenta el sensor potenciométrico TETDS dependiendo de si el análisis se realiza en continuo o en estático. La posición de enlace más fuerte de los ácidos húmicos deja libre una menor concentración de iones cobre (II). En el análisis en continuo, debido a que presenta mayor límite de detección, la mínima concentración de iones cobre (II) detectada corresponde con un valor donde esta posición de enlace se encuentra

prácticamente saturada. Por esta razón, en este caso es imposible estimar el valor de la constante de estabilidad.



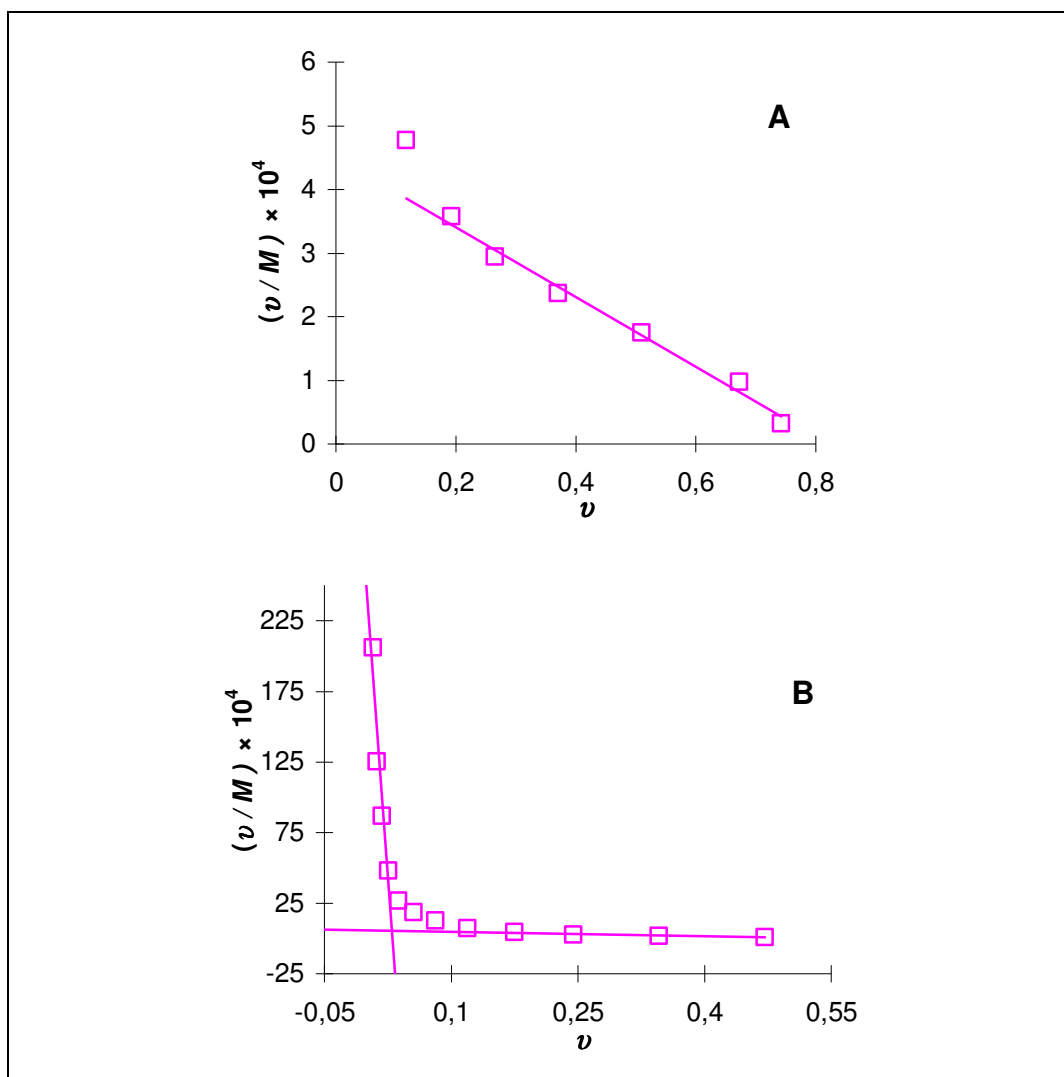
**Figura 61.** Señales potenciométricas para dos inyecciones repetidas de disoluciones de ácido húmico (0.30 g/l de ácido húmico comercial de Aldrich) con concentraciones molares de cobre (II), expresadas como logaritmo de la concentración,  $\log c_{\text{Cu}}$ , -4.92 (a), -4.70 (b), -4.55 (c), -4.40 (d), -4.22 (e), -4.00 (f), -3.85 (g), -3.70 (h), -3.55 (i), -3.40 (j), -3.22 (k), -3.00 (l). Condiciones: 4.1 ml/min, volumen de inyección 0.500 ml, disolución portadora  $\text{NaNO}_3$  0.1 M y PIPES 0.01 M (pH 6.0).



**Figura 62.** Respuesta potenciométrica del sensor modificado con 25.1 % TETDS en ausencia (●) y en presencia (□) de una disolución de ácido húmico comercial Aldrich en concentración 0.30 g/l, a fuerza iónica constante.  
**A**– Análisis en continuo, **B**– Análisis en estático.

Las constantes de estabilidad obtenidas son  $\log K_1 = 8.06$  y  $\log K_2 = 4.82$  cuando se realiza el análisis en estático, y  $\log K_2 = 4.79$  cuando se realiza en continuo. La pequeña diferencia observada en los valores de la constante de la posición de enlace más débil prácticamente puede asociarse a errores experimentales. Las constantes de estabilidad

obtenidas en la valoración con el sensor TETDS son muy similares a los resultados reflejados en el apartado V. 2.2.4. de esta memoria, cuando la valoración potenciométrica del mismo ácido húmico se realiza con el sensor DTS y con un electrodo comercial selectivo a los iones cobre (II).



**Figura 63.** Representaciones gráficas siguiendo el modelo propuesto por Scatchard de las valoraciones del ácido húmico comercial Aldrich en concentración 0.30 g/l de la Figura 62.

**A**– Análisis en continuo, **B**– Análisis en estático.

## **V. 4. EMPLEO DE LOS SENSORES POTENCIOMÉTRICOS EN SISTEMAS MULTISENORES.**

Una de las razones principales de haber abordado el desarrollo de este tipo de sensores potenciométricos que presentan una especificidad parcial (sensibilidad cruzada) a diversos elementos, es la posibilidad de utilizarlos de manera conjunta en el análisis de mezclas de metales a los que son sensibles.

### **V. 4.1. Introducción.**

El análisis ambiental requiere la medida rápida y sencilla de un importante número de especies químicas diferentes que caractericen la muestra. La aproximación clásica a este problema es la utilización de sensores selectivos uno por cada parámetro o especie química a analizar. Sin embargo en presencia de muestras complejas, los sensores tienden a perder su propia especificidad y su respuesta no depende sólo de la concentración de la especie para la que ha sido diseñada y llega a estar muy influenciada por la presencia de otras sustancias en la muestra.

Hasta hace unos pocos años, la búsqueda de nuevos materiales sensores para el análisis de muestras líquidas, especialmente mediante medidas potenciométricas, se centraba en alcanzar la mayor selectividad posible o especificidad al elemento a partir de la composición del sensor (membrana). Sin embargo, en medios complejos como aguas naturales o alimentos, la respuesta de cualquier sensor puede llegar a ser complicada o difícilmente predecible. Hay muy pocos sensores que no sufren problemas tales como interferencias, derivas en la calibración, ruido o falta de reproducibilidad. Aunque algunos de estos problemas pueden resolverse con estrategias como la purificación de la disolución de la muestra, mediante separaciones, o la calibración frecuente, estas estrategias consumen tiempo y no están exentas de error [189].

Una posible solución a estos problemas es el uso de conjuntos de sensores junto con Métodos Matemáticos de Reconocimientos de Pautas (MMRPs) usados para interpretar las señales complejas de los conjuntos de sensores. En análisis de gases con múltiples sensores, tales sistemas se han denominado como “**narices electrónicas**” [1, 190]. Un sistema basado en principios de organización similar, pero sobre bases sensoras diferentes, puede desarrollarse para análisis de líquidos, y se han definido como “**lenguas electrónicas**” [1, 191, 192]. El uso de un conjunto de sensores más o menos selectivos mejora las características del análisis, permitiendo la obtención de un gran número de datos por muestra los cuales permitirán, en una primera aproximación, la determinación de múltiples componentes, usando cálculos de análisis multivariante [7]. Por otra parte, ese conjunto de datos permitirá caracterizar otros parámetros importantes en el análisis como son las posibles interferencias y otros problemas de medida, obteniendo una medida de la concentración del analito más fiable.

De acuerdo a esta situación, una lengua electrónica es un instrumento analítico que incluye un conjunto de sensores químicos pobremente selectivos, con especificidad parcial a diferentes componentes de la disolución, y un apropiado MMRP, capaz de reconocer cualitativa y cuantitativamente la composición de disoluciones simples o complejas. El diseño del conjunto de sensores es la parte más importante en el desarrollo del sistema. La *sensibilidad cruzada* de los sensores a los diferentes componentes, más que su selectividad, es de capital importancia para los sensores utilizados en el conjunto, además de la necesidad de una respuesta estable y reproducible en medios complejos. Esta sensibilidad cruzada de los sensores potenciométricos no puede tratarse simplemente como un valor inverso al coeficiente de selectividad de un sensor selectivo a un ión en presencia de otro interferente. En disoluciones complejas de una docena de componentes, las diferencias significativas en los mecanismos de los sensores, la no linealidad de su respuesta por diversas causas, algunos problemas cinéticos, las interacciones de múltiples iones, los efectos de la fuerza iónica y la posible adsorción sobre el sensor de los componentes “fondo” o “indiferentes”, etc, puede provocar sensibilidad cruzada que será por tanto muy diferente a la no-selectividad [193]. Intentar abordar estas sensibilidades cruzadas mediante consideraciones teóricas adecuadas es difícil en estas situaciones, incluso en casos relativamente simples como el análisis de mezclas sencillas de metales.



#### V. 4.1.1. Dispositivos potenciométricos en sistemas multisensores.

Los dispositivos potenciométricos son los más ampliamente utilizados en análisis de muestras líquidas debido a que requieren aparatos de medida relativamente simples y proporcionan un elevado rango de elementos sensibles (diversos electrodos de películas poliméricas, vidrio o metálicos). Se han descrito diferentes aproximaciones de sensores multivariantes o lenguas electrónicas basados en potenciometría. Un ejemplo son los basados en cristales de calcogenuros, entre los que se incluyen electrodos selectivos de iones convencionales (cloruro, sodio, potasio) combinados con una rutina de reconocimiento de pautas [193-196]. Estos sensores presentan selectividades cruzadas, lo que les permite el análisis multicomponente en muestras complejas, como son la medida de metales en aguas de río, el análisis ambiental y el control de procesos [197-202]. Sensores de este tipo, unidos a membranas de PVC, se han empleado para el control y análisis de bebidas [7, 203-206].

#### V. 4.1.2. Análisis multivariante.

Para poder extraer la información conseguida a través de sistemas de sensores químicos, se hace necesario el uso de métodos matemáticos de análisis multivariante. Se usan distintas estrategias dependiendo si queremos obtener una clasificación o correlación entre los datos para obtener una categoría, o si queremos hacer una calibración para obtener datos cuantitativos (predicciones) multicomponentes.

El análisis de componentes principales (PCA) es una transformación matemática que se usa para explicar la varianza en datos experimentales [207]. La matriz de datos consiste en un número de experimentos de los que se ha obtenido una serie de variables. PCA descompone la matriz de datos en un número pequeño de variables latentes que sucesivamente acumulan tanta varianza como es posible. Una representación gráfica de los componentes principales muestra una relación entre las observaciones o experimentos, agrupándolos dentro de la gráfica y permitiendo así, su clasificación. No se requiere conocimiento acerca de las muestras y las variables, y la estructura de datos se representa con

el menor número de variables latentes como se pueda. El mayor problema de esta metodología es dar significado a los componentes extraídos [208].

Para hacer modelos de conjuntos de calibración de datos, se pueden emplear diferentes metodologías, como las proyecciones a estructuras latentes (PLS) y las redes neuronales (ANN). PLS es un modelo estadístico lineal en el cual se realiza el análisis de componentes principales, tanto en el conjunto de datos (señales de los sensores) y los valores correspondientes (las concentraciones) [209, 210]. Se realiza entonces una regresión lineal entre los datos y los valores con vista a obtener un modelo de regresión útil entre ellos. Los ANN son especialmente valiosos porque se adaptan a casi cualquier transformación matemática. Los modelos obtenidos son no lineales, por lo que se pueden ajustar a respuestas de calibración no lineal. Un ANN puede dividirse en diferentes capas: una capa de entrada que consiste en las señales de entrada; una o más capas ocultas y una capa de salida. Estos dos últimos tipos de capas consisten en nodos de procesamiento de señal, cada uno conectado a otro en una red, estando la fuerza de conexión establecida por pesos. Durante el aprendizaje, los datos de salida del ANN se comparan con los valores reales y los pesos de acoplamiento se ajustan para dar un valor mínimo en la suma de los cuadrados de los residuales.

#### V. 4.2. Objeto del estudio.

Debido a la sensibilidad cruzada que presentan los sensores potenciométricos desarrollados en el análisis de los iones cobre (II) y mercurio (II), en este apartado se estudia la posibilidad de emplearlos de manera conjunta en el análisis de mezclas de ambos metales. Los resultados que se muestran en la memoria constituyen los datos iniciales obtenidos, y reflejan las posibilidades de utilización de estos sensores en el desarrollo de este tipo de metodologías.

### V. 4.3. Estrategias de modelado.

Para la calibración multivariante de los datos, se ha empleado tanto el modelo de mínimos cuadrados parciales como modelos de redes neuronales.

#### V.4.3.1. Modelo de mínimos cuadrados parciales (PLS).

El modelo PLS derivado para medidas potenciométricas establece que:

$$pC = E \cdot S \quad (26)$$

donde  $pC$  es la matriz de los logaritmos negativos de las concentraciones de los iones en la disolución ( $m$  muestras por  $l$  analitos),  $E$  es la matriz de los potenciales de respuesta de los distintos sensores en esas disoluciones ( $m$  muestras por  $n$  sensores), y  $S$  es la matriz de los coeficientes del modelo ( $n$  sensores por  $l$  analitos).

Los potenciales de respuesta para cada sensor se centraron para eliminar el término independiente en la ecuación del potencial:

$$E_{i \text{ cent}} = (E_i - \bar{E})/s \quad (27)$$

donde  $E_i$  es el potencial medido con un determinado sensor en una muestra determinada,  $\bar{E}$  es el valor promedio de los potenciales medidos por ese sensor en todas las muestras y  $s$  su desviación estándar. Para que la variación de los datos de concentraciones de la calibración no sea muy dispar, los valores de  $pC$  fueron escalados entre -1 y +1, donde -1 representa el valor mínimo de la variable y +1 su valor máximo. El escalado se realiza mediante la expresión:

$$y'_{ij} = 2 \frac{y_{ij} - y_{\min,j}}{y_{\max,j} - y_{\min,j}} - 1 \quad (28)$$

donde  $y_{\min,j}$  es el valor mínimo de la variable  $j$ ,  $y_{\max,j}$  es su valor máximo,  $y'_{ij}$  es el valor escalado e  $y_{ij}$  el correspondiente al valor sin escalar. La ecuación para “deshacer” el escalado, es decir, para recuperar la escala “natural” de la variable, se obtiene despejando  $y_{ij}$  en la ecuación anterior:

$$y_{ij} = \frac{1}{2}(y'_{ij}+1)(y_{\max,j} - y_{\min,j}) + y_{\min,j} \quad (29)$$

El cálculo de regresiones se realiza mediante la utilización del paquete de software Microsoft® Excel 2002.

##### V. 4.3.2. Modelo de redes neuronales (ANN).

El entrenamiento del ANN se realiza empleando el paquete de software Matlab 6 (Math Works). Para el modelado de la respuesta del conjunto de sensores, se usa una red neuronal con retropropagación ‘feedforward backpropagation’ con el algoritmo de entrenamiento *Levenberg-Marquardt*, algoritmo con el que se consigue un mejor ajuste de los datos de entrenamiento.

El empleo de una red neuronal requiere la selección de una correcta topología. Para ello es necesario un proceso de prueba y error en donde se cambian las estrategias de entrenamiento, las dimensiones de la capa oculta y las funciones de transferencia usadas en la capa oculta y en la de salida hasta alcanzar la combinación adecuada.

Siguiendo las recomendaciones descritas para los sistemas ‘feedforward ANN’ [187], se fija como función de transferencia de salida una de tipo lineal. Además, en esta aplicación inicialmente se establecen como constantes los siguientes parámetros experimentales:

- una neurona para la capa de entrada por cada sensor potenciométrico, incluyendo el electrodo de pH
- dos neuronas en la capa de salida, una por cada elemento analizado

- una función de transferencia de la capa oculta no lineal (de forma sigmoideal) debido a la respuesta logarítmica a la concentración que presentan los sensores, aunque también se obtienen resultados bastante adecuados con una función de transferencia lineal debido al centrado y escalado de los datos.

El error global de los distintos modelos se calcula como la suma de los errores al cuadrado de la predicción, definida como:

$$SEC = \sum_{i=1}^N (x_i - a_i)^2 \quad (30)$$

donde N es el número de muestras utilizadas,  $x_i$  y  $a_i$  los valores de concentración esperados y obtenidos a partir del modelo, respectivamente.

#### V. 4.4. Análisis de mezclas.

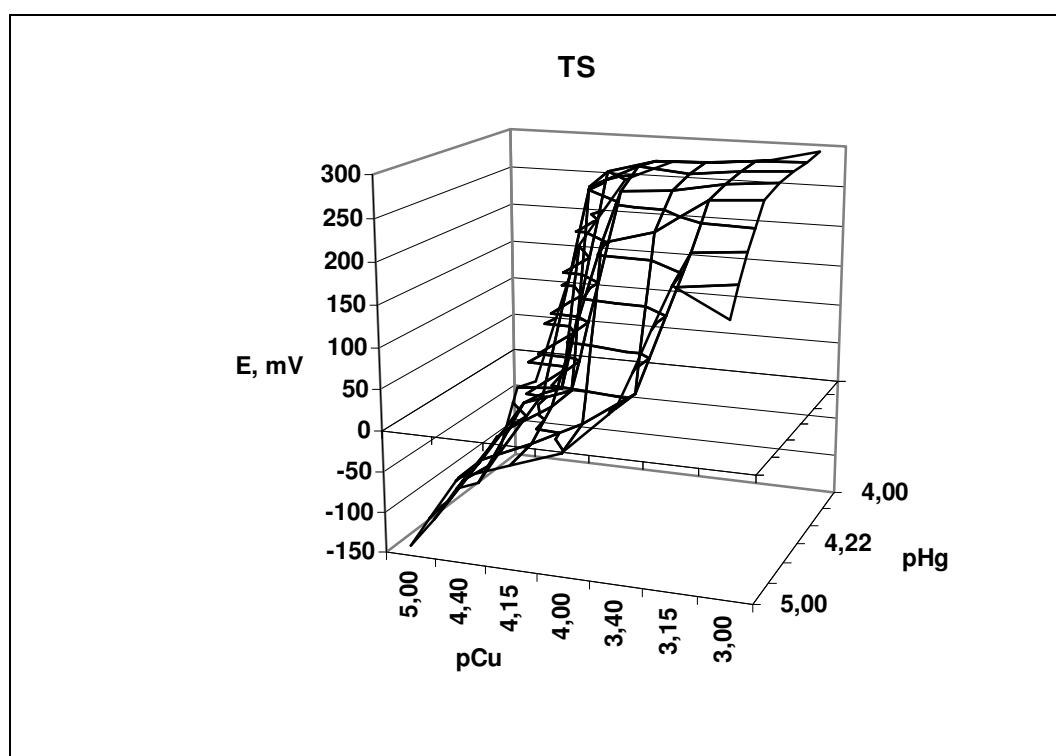
##### V. 4.4.1. Sensibilidad de la respuesta de los sensores en mezclas de cobre y mercurio.

En un primer estudio, se determina la respuesta de los sensores potenciométricos en disoluciones que contienen distintas concentraciones de cobre (II) y mercurio (II) siguiendo el procedimiento descrito en el apartado III. 3.1. La concentración de cobre (II) varía desde  $1.00 \times 10^{-5}$  M hasta  $1.00 \times 10^{-3}$  M y la de mercurio (II) desde  $1.00 \times 10^{-5}$  M hasta  $1.00 \times 10^{-4}$  M. Las Figuras 64, 65, 66 reflejan la variación del potencial con los cambios en las concentraciones de los iones, para los tres sensores investigados.

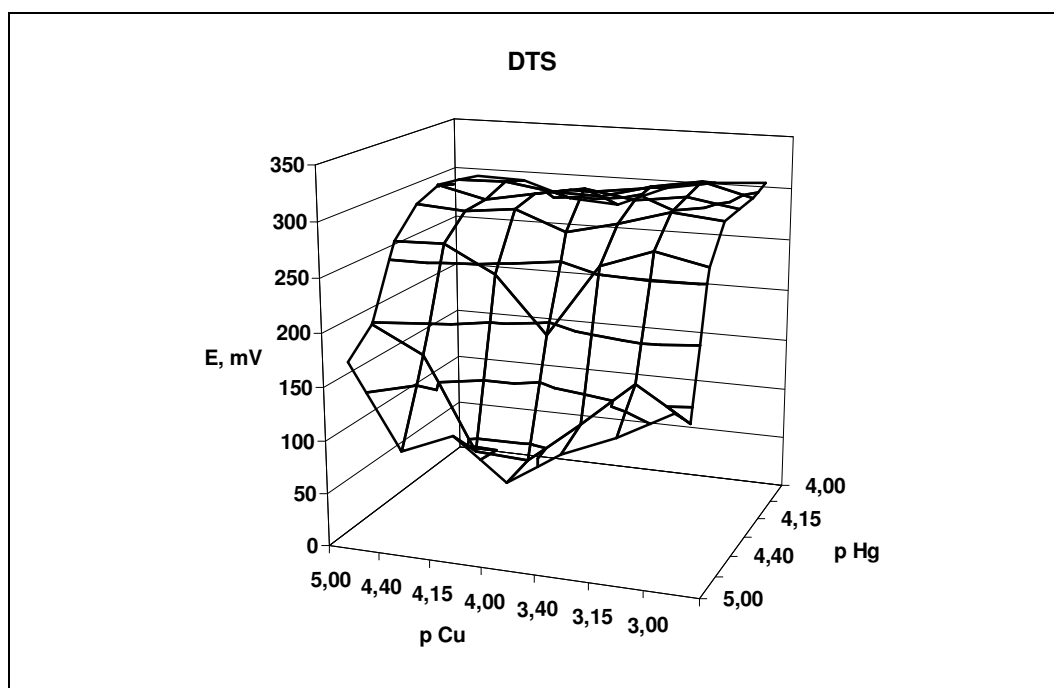
Como se observa en las figuras, el sensor TS muestra gran sensibilidad a los cambios en las concentraciones de los dos iones metálicos, especialmente a bajas concentraciones. El sensor DTS presenta una mayor sensibilidad (mayor variación del potencial) con los cambios en las concentraciones de mercurio (II) para una concentración fija de cobre (II), siendo mucho más pequeña la variación del potencial cuando la concentración de mercurio (II)

permanece fija y varía la del cobre (II). Por el contrario, el sensor TETDS muestra un comportamiento inverso al del DTS. En este caso, el sensor presenta una clara variación del potencial con los cambios en las concentraciones de cobre (II) en presencia de una concentración fija de mercurio (II), mientras que la sensibilidad a los iones mercurio (II) en presencia de una concentración fija de cobre (II), es muy pequeña, especialmente cuando la concentración de estos iones es superior a la del mercurio (II).

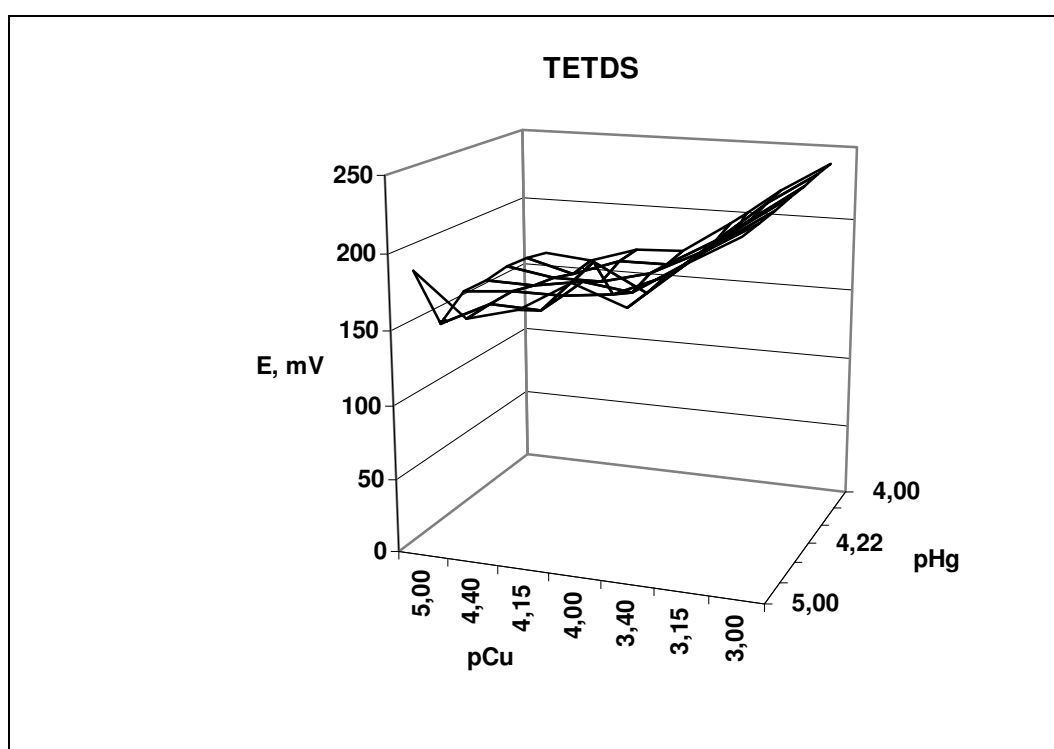
Por tanto, en estas condiciones de mezcla, parece más adecuado seleccionar el sensor TETDS como el más selectivo para los iones cobre (II), y el sensor DTS como el más selectivo para los iones mercurio (II).



**Figura 64.** Variación del potencial medido por el sensor TS para distintas concentraciones de cobre (II) y mercurio (II) en la disolución de medida.



**Figura 65.** Variación del potencial medido por el sensor DTS para distintas concentraciones de cobre (II) y mercurio (II) en la disolución de medida.

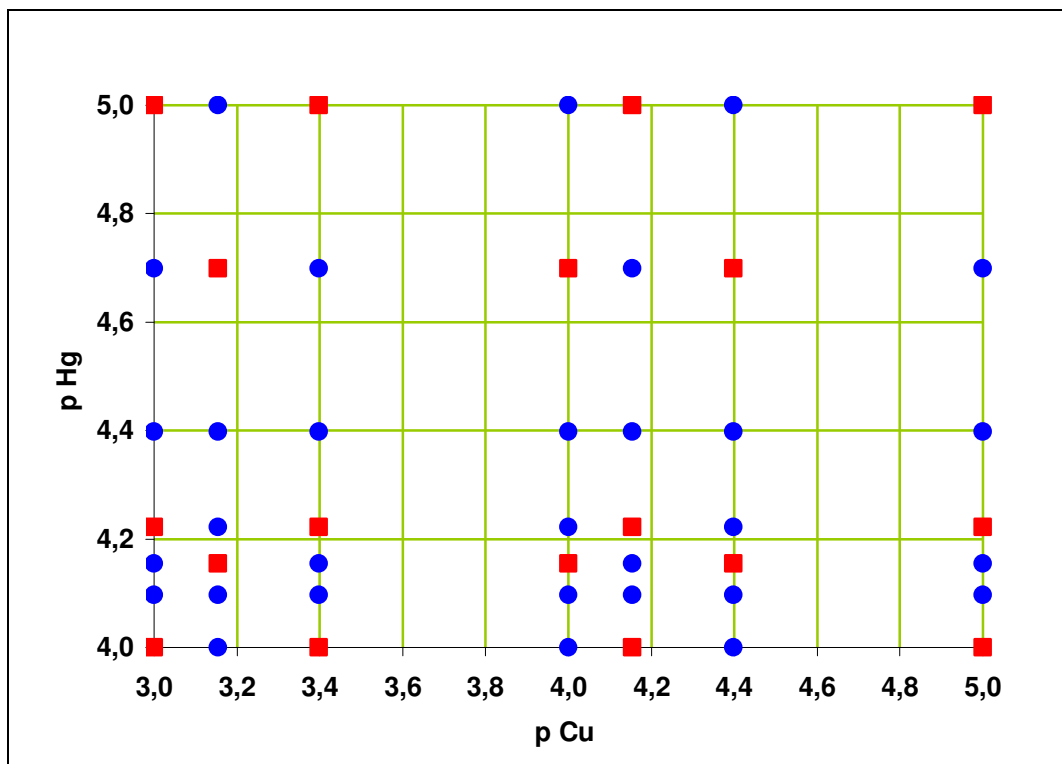


**Figura 66.** Variación del potencial medido por el sensor TETDS para distintas concentraciones de cobre (II) y mercurio (II) en la disolución de medida.

## V. 4.4.2. Análisis realizados con las superficies de los sensores renovadas.

En un primer estudio de la aplicabilidad de los sensores en el análisis de mezclas, se utilizan los sensores DTS y TETDS renovando su superficie antes de cada serie de medidas.

Para generar la información necesaria para el modelado del sistema se preparan 49 mezclas diferentes que contienen cobre (II) y mercurio (II). Entre todas las muestras, se seleccionan 18 (37%) para la calibración o el entrenamiento, reservando el resto para la validación externa del procedimiento. Las mezclas empleadas para la calibración o validación se reflejan en la Figura 67.



**Figura 67.** Diseño experimental completo. Mezclas utilizadas en la obtención de datos de ajuste o entrenamiento (■) y mezclas utilizadas para comprobar el diseño experimental (●).

Como el sistema está sobredimensionado, la matriz de coeficientes del modelo se obtiene mediante el cálculo matricial:



$$S = (pC^t \cdot pC)^{-1} \cdot pC^t \cdot E \quad (31)$$

donde ' $t$ ' indica la matriz transpuesta y ' $-1$ ' la matriz inversa.

La capacidad de reconocimiento del modelo se evalúa con el conjunto de datos de calibración, mientras que la capacidad de predicción del modelo se evalúa mediante el conjunto de datos de validación.

#### *Modelo de mínimos cuadrados parciales (PLS)*

Las Figuras 68 y 69 representan las concentraciones puestas frente a las predichas mediante el modelo PLS, tanto para el conjunto de datos de calibración como para el conjunto de datos de validación.

Realizando la medida del potencial con la superficie de los sensores renovada, los datos de calibración no se ajustan adecuadamente a una recta. Las regresiones obtenidas son peores en el caso del cobre (II) ( $R^2 = 0.674$ ) que en el del mercurio ( $R^2 = 0.834$ ).

En las Figuras se observan elevadas dispersiones tanto para los datos de calibración como para los de validación. El error global ( $SEC$ ), expresado en términos de  $pC$  para los iones cobre (5.5) es superior que para el mercurio (0.65). La elevada dispersión obtenida se debe a la presencia de fuentes de varianza en la calibración que el modelo no es capaz de predecir. La principal fuente de varianza es la competencia de los iones cobre (II) y mercurio (II) por el ligando presente en la superficie del sensor. Esta competencia está desplazada hacia el cobre (II) o el mercurio (II) dependiendo de la relación de concentraciones de los iones presentes en disolución.

#### *Modelo de red neuronal (ANN)*

Para intentar reducir las fuentes de varianzas, se plantea el empleo de una ANN compuesta por tres capas de neuronas. Los mismos conjuntos de datos utilizados en el modelo PLS se emplean en el entrenamiento y validación de la ANN.

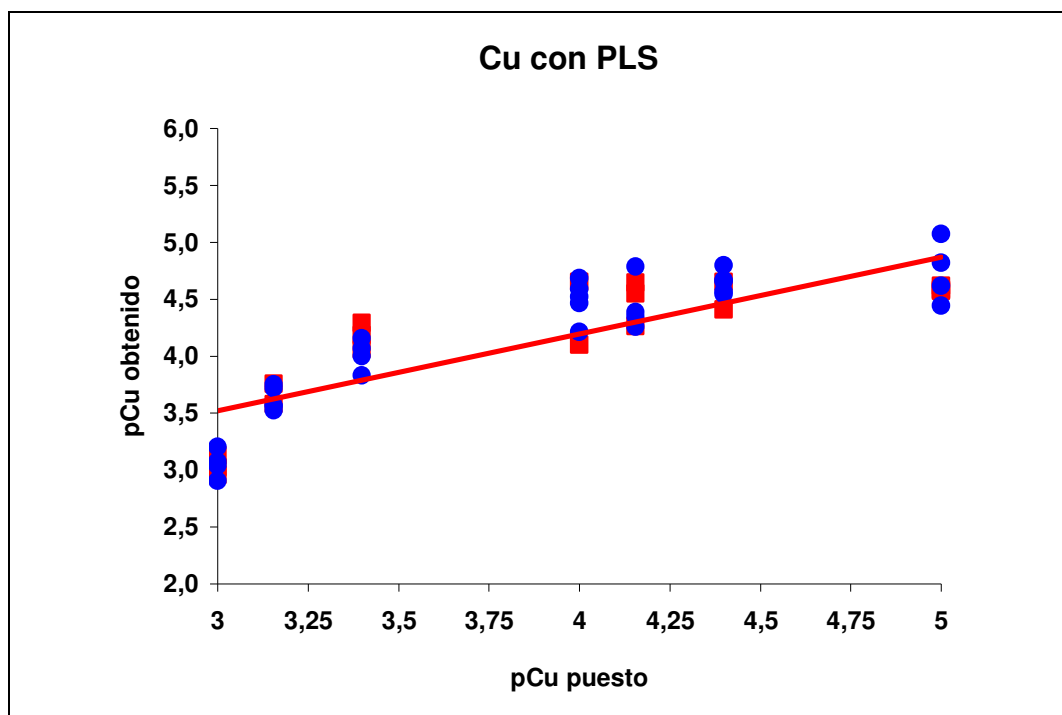
En la optimización de la configuración de la ANN, inicialmente se ensayan dos algoritmos para el entrenamiento en retropropagación, con los que se van modificando los coeficientes de las funciones de transferencia y los pesos de las conexiones, hasta alcanzar un mínimo en la función de respuesta (mínimo valor de *SEC*). Los dos algoritmos estudiados son el *Batch Gradient Descent* (BGD) y el *Lavenberg-Marquardt* (LM). Entre los dos, el algoritmo LM es el único que alcanza el mejor valor de optimizado deseado (0.0001) en un número de iteraciones inferior a las 500 establecidas como límite.

La elección de la función de transferencia entre la capa oculta y la capa de salida de la red neuronal afecta en gran medida en la obtención de un buen ajuste de los datos. Se realizan ensayos tanto con una función de transferencia lineal como con una no lineal (sigmoideal), obteniéndose mejores ajustes de los datos con esta última.

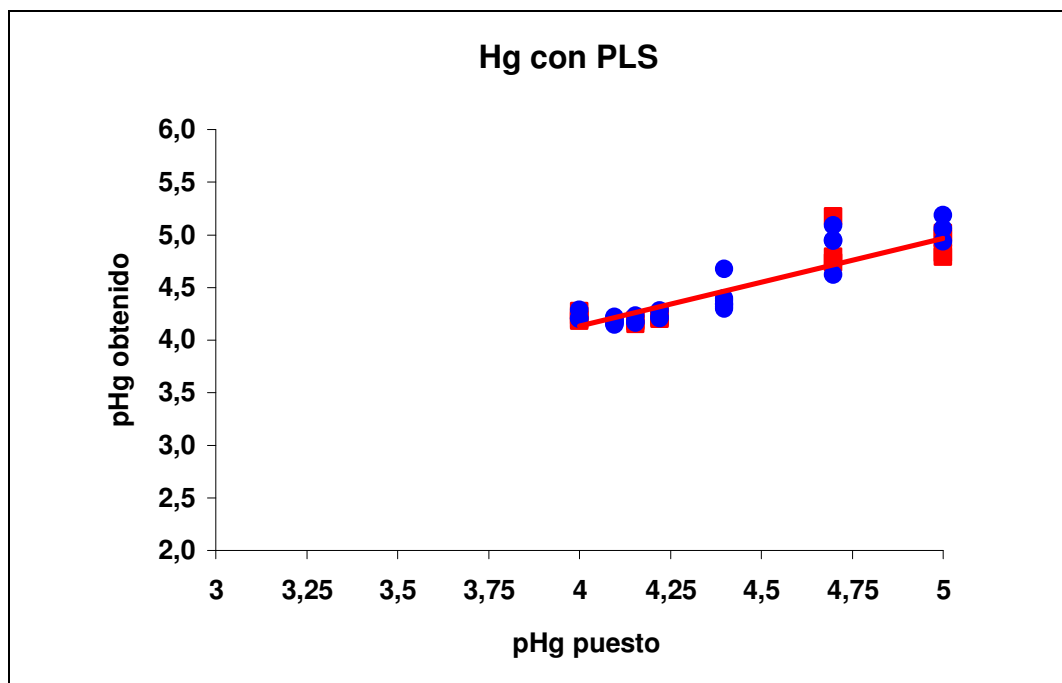
Para finalizar el diseño de la ANN, se optimiza el número de neuronas que debe contener la capa oculta de la red. Se ensayan valores comprendidos entre 5 y 30 neuronas, obteniéndose los menores valores de *SEC* para 20 y 25 neuronas. Por tanto, se selecciona como óptimo el valor de 20 neuronas.

En las Figuras 70 y 71 se representan las concentraciones puestas frente a las predichas mediante la ANN, tanto para el conjunto de datos de entrenamiento como para los de validación.

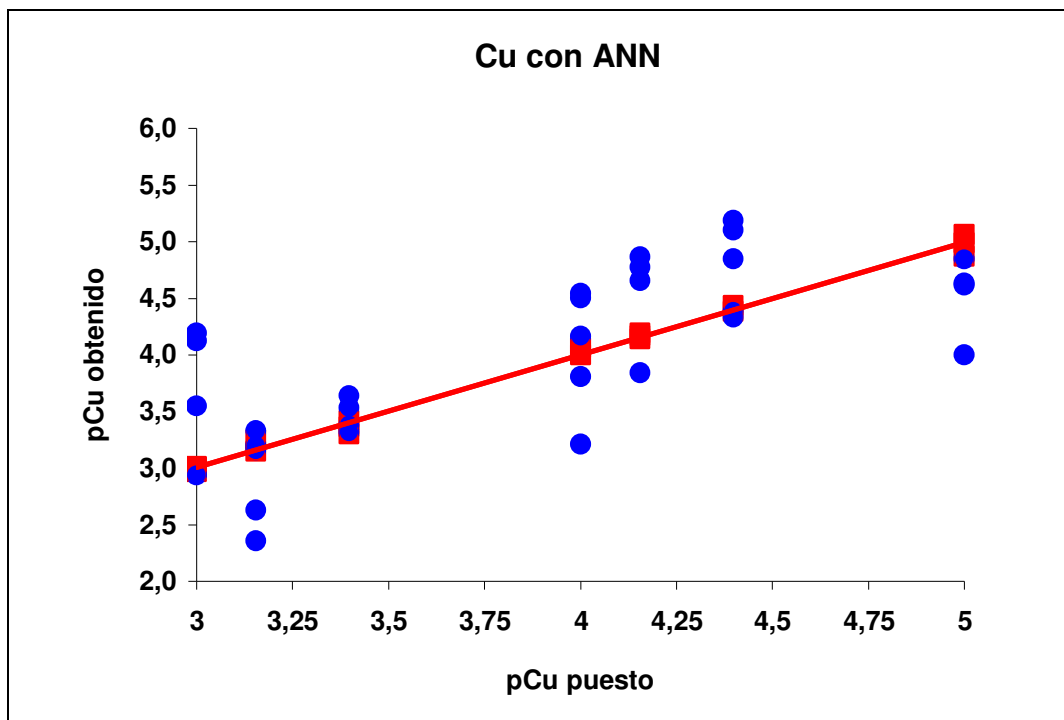
A diferencia de los resultados obtenidos para el modelo PLS, las respuestas obtenidas con la ANN para los datos de entrenamiento se ajustan mejor a una recta. Los valores de regresión obtenidos para los iones cobre (II) son de  $R^2 = 0.992$  y para los iones mercurio (II)  $R^2 = 0.922$ . Sin embargo, la imprecisión de las predicciones de los datos empelados en la validación es también elevada, lo que indica que las fuentes de varianza no han sido compensadas adecuadamente con el modelo de ANN. Los valores de *SEC* obtenidos son 9.1 y 1.9 para los iones cobre (II) y mercurio (II), respectivamente.



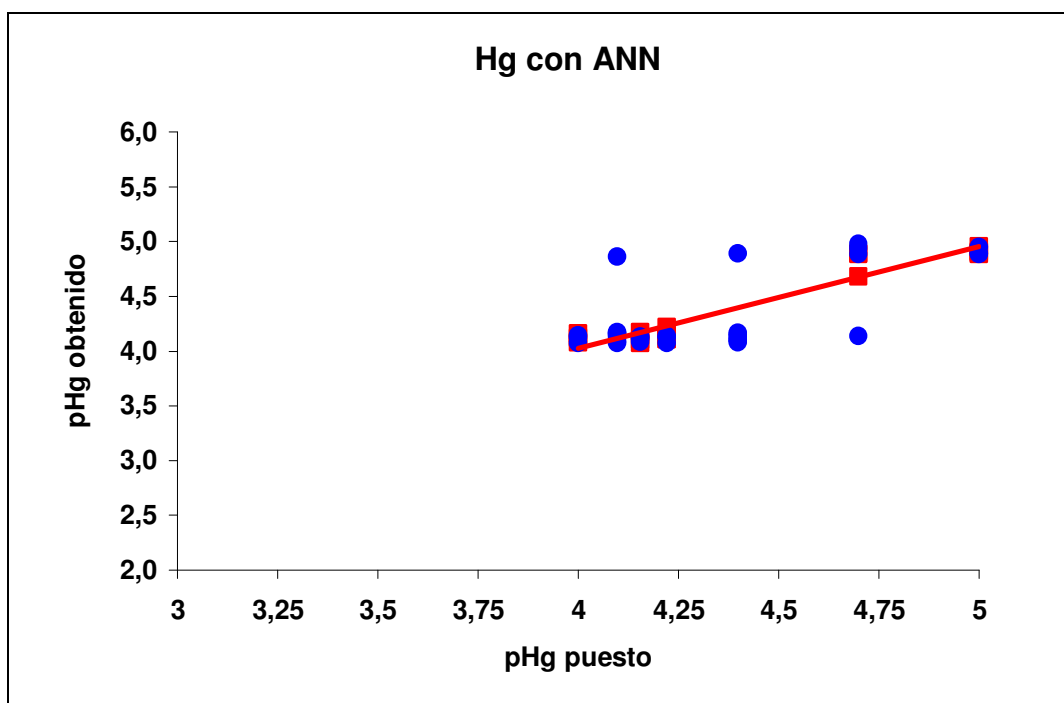
**Figura 68.** Predicciones de las muestras de calibración (■) y de validación (●) para el ión cobre (II) obtenidas con el modelo PLS y la superficie de los sensores renovadas. La línea representa la recta de regresión obtenida para los datos de calibración.



**Figura 69.** Predicciones de las muestras de calibración (■) y de validación (●) para el ión mercurio (II) obtenidas con el modelo PLS y la superficie de los sensores renovadas. La línea representa la recta de regresión obtenida para los datos de calibración.



**Figura 70.** Predicciones de las muestras de entrenamiento (■) y de validación (●) para el ión cobre (II) obtenidas con el modelo ANN y la superficie de los sensores renovadas. La línea representa la recta de regresión obtenida para los datos de calibración.



**Figura 71.** Predicciones de las muestras de entrenamiento (■) y de validación (●) para el ión mercurio (II) obtenidas con el modelo ANN y la superficie de los sensores renovadas. La línea representa la recta de regresión obtenida para los datos de calibración.

#### V. 4.4.3. Análisis realizados con las superficies de los sensores activadas.

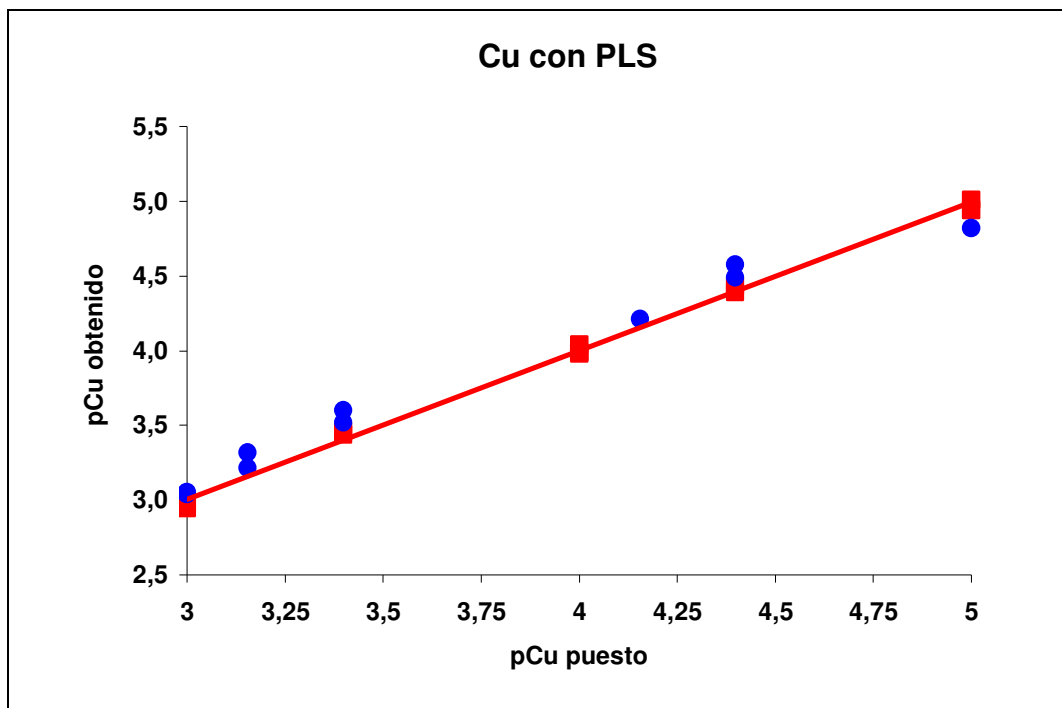
Para intentar reducir la imprecisión de las medidas, se activa la superficie de cada uno de los sensores sumergiéndolos durante un cierto tiempo en una disolución que contienen una elevada concentración de uno de los metales. De acuerdo a las respuestas obtenidas para cada sensor en las disoluciones de las mezclas de metales, el sensor TETDS se sumerge en una disolución de cobre (II), mientras que el sensor DTS se activa con disolución de mercurio (II).

El modelado del sistema se lleva a cabo con la información obtenida de las 21 mezclas diferentes que contienen cobre (II) y mercurio (II). De todo el conjunto de muestras, se seleccionaron 11 (52 %) para la calibración o el entrenamiento, reservando el resto para la validación externa del procedimiento.

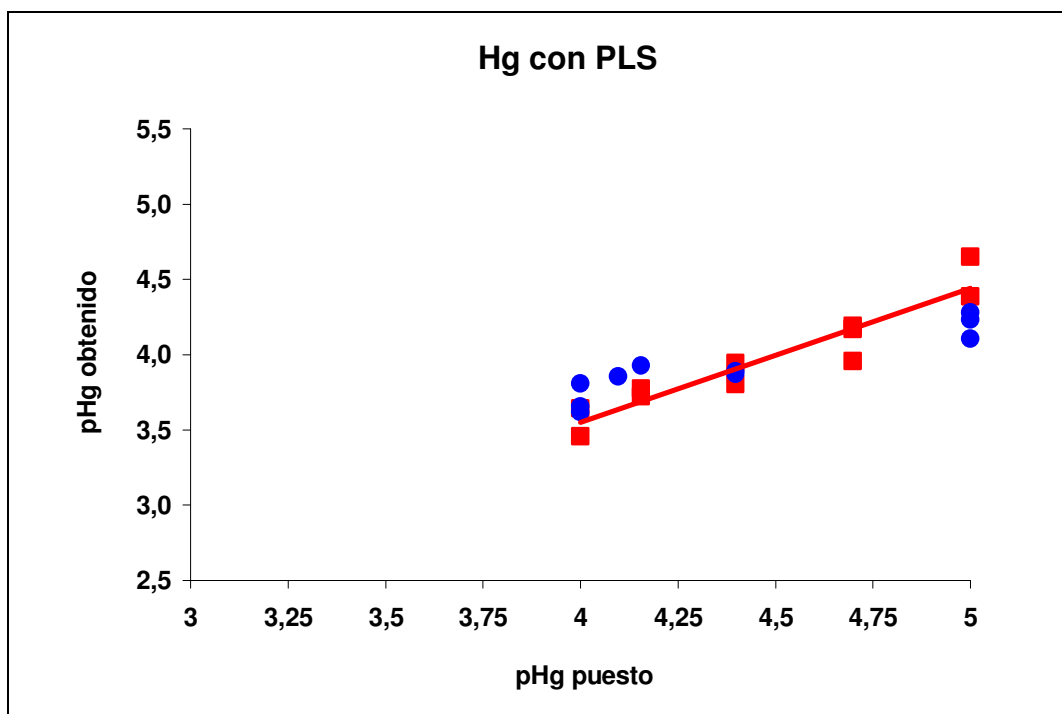
Para la calibración con el modelo PLS ó con el ANN se utilizan las mismas condiciones que en el caso precedente, que nuevamente, demostraron ser las óptimas.

En las Figuras 72 y 73 se representan las predicciones obtenidas con el conjunto de datos utilizados para la calibración con el modelo PLS, mientras que en las Figuras 74 y 75 se observan los resultados obtenidos con la ANN.

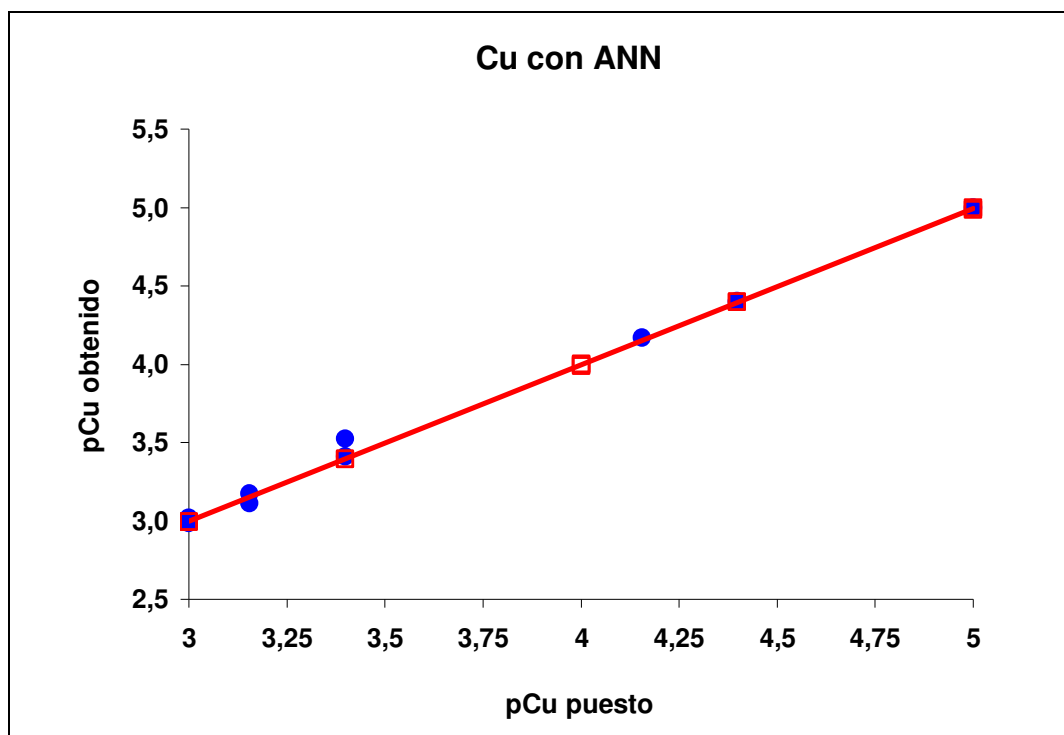
Aunque en este caso el número de datos es menor, las precisiones de los resultados son mayores, especialmente cuando se emplea la red neuronal. Mientras que con el modelo PLS se obtienen regresiones de  $R^2 = 0.997$  para el cobre (II) y  $R^2 = 0.893$  para el mercurio (II), con el modelo ANN se alcanzan regresiones de  $R^2 = 0.999$  en ambos casos. La mejora en la precisión de los resultados también se observa en los errores globales. En este caso se obtienen valores de *SEC* para el cobre (II) y el mercurio (II) de 0.17 y 2.8 cuando se emplea el modelo PLS y 0.02 y 0.001 utilizando la ANN.



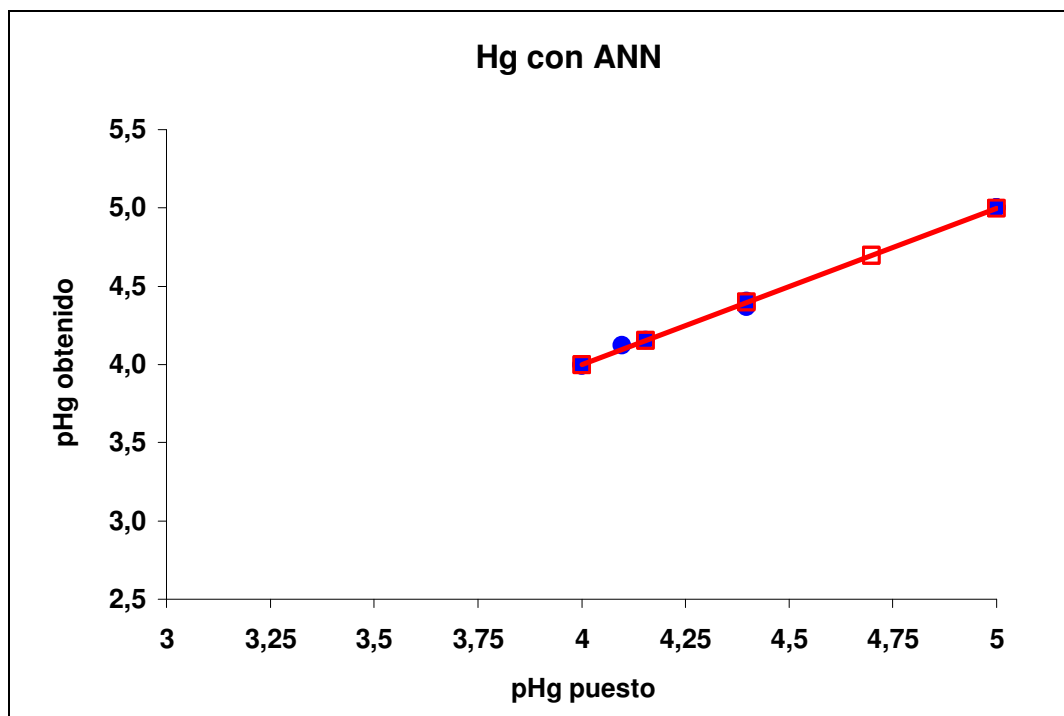
**Figura 72.** Predicciones de las muestras de calibración (■) y de validación (●) para el ión cobre (II) obtenidas con el modelo PLS y la superficie de los sensores activados. La línea representa la recta de regresión obtenida para los datos de calibración.



**Figura 73.** Predicciones de las muestras de calibración (■) y de validación (●) para el ion mercurio (II) obtenidas con el modelo PLS y la superficie de los sensores activados. La línea representa la recta de regresión obtenida para los datos de calibración.



**Figura 74.** Predicciones de las muestras de entrenamiento (□) y de validación (●) para el ión cobre (II) obtenidas con el modelo ANN y la superficie del sensor activada. La línea representa la recta de regresión obtenida para los datos de calibración.



**Figura 75.** Predicciones de las muestras de entrenamiento (□) y de validación (●) para el ión mercurio (II) obtenidas con el modelo ANN y la superficie del sensor activada. La línea representa la recta de regresión obtenida para los datos de calibración.

Los resultados obtenidos indican que para este tipo de sensores, una importante fuente de varianza es la competencia entre los distintos metales por el modificador de la superficie del sensor. Además la competencia que se establece por el receptor del sensor, varía fuertemente en función de la concentración relativa de los metales en la disolución de medida.

La varianza observada puede reducirse en gran medida si los sensores se activan con uno de los metales presentes en las muestras, metal al que el sensor debe ser sensible y presentar la mejor respuesta en el análisis de mezclas.

Por otra parte, el uso de modelos basados en redes neuronales (ANN) con funciones de respuesta no lineales, mejora en gran medida la exactitud y precisión de los datos obtenidos.

Estos resultados parecen avalar la utilización de este tipo de sensores potenciométricos en la determinación de las concentraciones de metales en mezclas. Para ampliar el campo de aplicación del sistema a un mayor número de elementos y conseguir así una mejor exactitud y precisión de la medida de las concentraciones, se debería ampliar el número de sensores y de receptores de los mismos, hasta alcanzar las dimensiones de las denominadas lenguas electrónicas.



## **VI. CONCLUSIONES**



## VI. 1. CONCLUSIONES.

El presente capítulo pretende recopilar las conclusiones más importantes obtenidas del trabajo realizado en esta tesis.

- ✓ El ácido tiosalicílico (TS), el ácido 2,2-ditiosalicílico (DTS) y el tetraetil tiuram disulfuro (TETDS) pueden emplearse como modificadores de sensores potenciométricos de pasta de carbón para la determinación de cobre, mercurio y plomo. Estos sensores son robustos, de fácil construcción, baratos y presentan respuestas potenciométricas reproducibles.
  - Los mayores intervalos lineales de la respuesta potenciométrica de los sensores se obtienen con porcentajes de modificador de la pasta de carbón de un 24.1 %, para los sensores modificados con los ligandos DTS y TS y 25 % para el sensor TETDS. El mayor intervalo de respuesta lineal para los iones cobre (II) y plomo (II) se obtiene con el sensor modificado con el ligando DTS y para el mercurio (II) con el sensor TETDS.
  - La renovación de la superficie de los sensores antes de cada análisis permite obtener mayores intervalos de respuesta potenciométrica y mejores límites de detección, sin pérdida de reproducibilidad y estabilidad en las medidas del potencial.
  - La respuesta potenciométrica de los sensores es adecuada. Los sensores DTS y TETDS presentan un tiempo de respuesta muy rápido de 3 y 4 segundos, respectivamente, para los iones cobre (II). La determinación de mercurio (II) es algo más lenta, con tiempos de respuesta de 18 y 60 segundos para los sensores DTS y TETDS. La respuesta potenciométrica que presentan los iones plomo (II) no es tan rápida, con tiempos de respuesta que en algunos casos superan el minuto (80 segundos para el sensor DTS).

- Los sensores potenciométricos desarrollados a lo largo de esta memoria muestran límites de detección mejores, y en algunos casos similares, que los de otros electrodos potenciométricos reseñados en la bibliografía. Para los iones mercurio (II) el mejor límite de detección se obtienen con el sensor DTS ( $1.8 \times 10^{-8}$  M), valor muy similar al del sensor TETDS ( $2.5 \times 10^{-8}$  M). En el caso del cobre (II) también se obtienen límites de detección muy similares con los sensores DTS y TETDS ( $1.3 \times 10^{-8}$  M y  $4.0 \times 10^{-8}$  M, respectivamente). Los sensores también presentan muy buenos límites de detección en la respuesta potenciométrica del plomo (II), cuando la determinación se realiza a pH 4.2 ( $5.0 \times 10^{-8}$  M y  $4.0 \times 10^{-8}$  M, sensor DTS y TS, respectivamente) ó a pH 6.0 ( $2.0 \times 10^{-6}$  M y  $1.6 \times 10^{-6}$  M, sensor DTS y TS, respectivamente).
- Los sensores presentan respuestas potenciométricas muy estables, sin apreciar apenas variaciones significativas en el valor del potencial cuando la repetición de un experimento se realiza en un mismo día o semanas más tarde. Entre los tres metales, las respuestas potenciométricas más estables se obtienen en las determinaciones de cobre (II). En cambio, en los análisis de plomo (II) se obtienen las mayores inestabilidades de la respuesta potenciométrica y por tanto, las mayores imprecisiones en el cálculo de la actividad del catión.
- El sensor potenciométrico modificado con el ligando TETDS es el que muestra una respuesta más selectiva para los iones cobre (II). Entre los cationes metálicos ensayados, solamente la presencia de iones hierro (III) y mercurio (II) influyen en el valor del potencial del sensor. Estas interferencias pueden evitarse si en la disolución de medida están presentes los iones cloruro en concentración superior a la de los interferentes. Los otros dos sensores presentan una respuesta potenciométrica menos selectiva hacia los iones cobre (II) con respecto a cationes de metales alcalino-térreos y de metales de transición.

- Las respuestas potenciométricas de los sensores DTS y TS hacia los iones plomo (II) muestran una adecuada selectividad. El hierro (III) y el mercurio (II), y en menor medida el cobre (II), son los principales interferentes. De todas formas, pueden realizarse determinaciones de plomo (II) utilizando estos sensores siempre que la concentración de cobre (II) y mercurio (II) sean, respectivamente, 10 y 50 veces inferiores que la de plomo (II). Además, la interferencia del hierro (III) se elimina realizando las determinaciones a pH 6.0. Entre ambos sensores, el modificado con el ligando DTS es el que presenta la respuesta potenciométrica más selectiva hacia los iones plomo (II).
  
  - El mercurio (II) es el metal con el que se obtienen respuestas potenciométricas más selectivas de los sensores modificados con los ligando DTS, TS y TETDS. Es debido a la presencia de átomos donadores de azufre en la composición de los tres compuestos. El sensor modificado con el ligando TS es el que presenta mayor selectividad. En cambio, las respuestas potenciométricas de los sensores DTS y TETDS pueden verse ligeramente afectadas si en la disolución de medida están presentes los iones hierro (III), en el caso del sensor DTS, y los iones cobre (II) y hierro (III), para el sensor TETDS.
- 
- ✓ Cuando los sensores potenciométricos de pasta de carbón modificada con los ligandos DTS, TS y TETDS se introducen en disoluciones que contienen iones cobre (II), plomo (II) o mercurio (II), tiene lugar la formación del correspondiente complejo en la superficie de los sensores. Los resultados de los ensayos realizados mediante microscopía electrónica y voltametría cíclica, previa concentración en la superficie del sensor del correspondiente catión metálico, nos permiten estimar la estequiometría y constante de formación del complejo formado.

- Los experimentos realizados mediante microscopía electrónica ponen de manifiesto la formación de los correspondientes complejos en la superficie de los sensores. En el caso de los iones cobre (II) y plomo (II) se forman los complejos de estequiometría 1:1 entre estos cationes y las moléculas de ligando DTS ó TS de la superficie del sensor. Los resultados obtenidos en los ensayos con mercurio (II) parecen indicar la incompleta formación del complejo de estequiometría 1:1 entre el mercurio y el ligando TS de la superficie del sensor. En cambio, no se obtiene una estequiometría coherente cuando los experimentos se realizan con el ligando DTS.
- Los posibles complejos que se forman entre el mercurio (II) y los ligandos DTS y TS se sintetizan con el fin de obtener información sobre el proceso que tiene lugar en la superficie de estos sensores y confirmar si, en este caso, se produce la ruptura de la molécula de DTS en dos moléculas de TS. Los resultados de los análisis por espectrofotometría de absorción atómica y los ensayos potenciométricos realizados utilizando nuevos sensores modificados con los compuestos sintetizados, reflejan distintos comportamientos entre los sólidos sintetizados con el ligando DTS y con el TS. A la vista de estos resultados, parece que no tienen lugar la ruptura de la molécula de DTS, y por tanto, puede suponerse la formación del complejo entre el mercurio (II) y este compuesto en la superficie del sensor.
- Mediante el método descrito por Kalcher, y de los resultados obtenidos en los ensayos de voltametría cíclica, previa acumulación del catión metálico en la superficie del sensor, se obtienen las correspondientes constantes cinéticas de acumulación y las constantes de estabilidad de formación de los complejos en la superficie de los sensores. Los iones cobre (II) son los que muestran cinéticas de acumulación más rápidas y constantes de formación más altas.

- ✓ Los sensores potenciométricos descritos a lo largo de esta memoria se han utilizado en determinaciones de metales mediante potenciometría directa en muestras de distinta naturaleza, como electrodos indicadores en valoraciones potenciométricas, en análisis potenciométricos en continuo y en la determinación de la concentración de varias especies de una misma muestra, obteniendo óptimos resultados en cada una de las aplicaciones realizadas.
  
- El sensor potenciométrico modificado con el ligando TETDS se pueden utilizar para determinar el contenido de cobre que contienen aceites lubricantes residuales. También mediante potenciometría directa se ha determinado el contenido de plomo de una aleación de soldadura empleando el sensor modificado con el ligando DTS. En ambos casos, se obtienen resultados muy similares a los obtenidos cuando se llevan a cabo los análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica. Estos datos confirman la correcta aplicación de estos sensores en la determinación del contenido de metales en muestras reales de distinta naturaleza.
  
- Se ha evaluado la utilidad de los sensores potenciométricos modificados con los ligandos TETDS y DTS en valoraciones potenciométricas. Las curvas experimentales obtenidas en las valoraciones de AEDT con los iones cobre (II), plomo (II) y mercurio (II) coinciden con las calculadas de forma teórica, confirmando la utilidad de estos sensores como electrodos indicadores. Además, el sensor DTS se ha empleado para determinar las constantes de estabilidad y estudiar así las propiedades de complejación de sustancias húmicas, procedentes de distintas fuentes, con los iones cobre (II), plomo (II) y mercurio (II). Las constantes de estabilidad de los ácidos húmicos y estos cationes coinciden con los resultados obtenidos cuando se realiza la valoración con un sensor potenciométrico comercial. De este modo se confirma la correcta aplicación de estos sensores en estudios medioambientales de interacción.

- El sensor modificado con el ligando TETDS se ha utilizado en el análisis potenciométrico en continuo de los iones cobre (II). En la determinación en continuo de estos iones, el sensor TETDS presenta un menor intervalo de respuesta lineal y mayor límite de detección que en la determinación en estático. En cambio, en el análisis en continuo, el sensor TETDS presenta una respuesta mucho más selectiva para los iones cobre (II). Este sensor se emplea en determinaciones potenciométricas en continuo de cobre en muestras reales de distinta naturaleza con óptimos resultados.
- Por último, siguiendo las últimas tendencias en el campo de los sensores potenciométricos y aprovechando la sensibilidad cruzada que presentan los sensores desarrollados a lo largo de esta memoria, se emplean en el análisis de mezclas de cobre (II) y mercurio (II). Entre las distintas condiciones experimentales y estrategias de modelado ensayados, los resultados más precisos y exactos se obtienen cuando las medidas se realizan con la superficie de los sensores activados, utilizando para el modelado redes neuronales (ANN). En este caso, los errores cometidos en el análisis de las muestras se encuentran entre 0.1-2 %. Los resultados avalan el uso de estos sensores en sistemas de análisis multicomponente, lo que constituye el primer paso para el desarrollo de lenguas electrónicas.



## **VII. BIBLIOGRAFÍA**



## VII. 1. BIBLIOGRAFÍA.

- [1] S. Alegret, M. Valle, A. Merkoci, “*Sensores electroquímicos*”. Ed. Servicio de Publicaciones de la Universidad Autónoma de Barcelona, 2004.
- [2] J. Koryta, K. Stulik. “*Ion Selective Electrode*”. Cambridge University Press 2ª Edición 1983.
- [3] G.J. Moody, J.D.R. Thomas. “*Selective Ion Sensitive Electrodes*”. Merrow Technical Library, (Watford) 1971.
- [4] J. Buffle. “*Complexation Reactions in Aquatic Systems. An Analytical Approach.*” John Wiley and Son. Ellis Horwood Limited, 1988.
- [5] D.T.E: Hunt, A.L. Wilson. “*The Chemical Analysis of Water*” The Royal Society of Chemistry, 1986.
- [6] K. Rajeshwar, J. Ibanez. “*Environmental Electrochemistry. Fundamentals and Applications in Pollution Abatement*”. Academic Press, 1997.
- [7] C. Di Natale, A. Macaganano, F. Davide, A. D’Amico, A. Legin, Y. Vlasov, A. Rudnitskaya, B. Selezenev. “*Sensors and Actuators B*”, 1997, 44, 423-428.
- [8] H. Chen, F. Tendeyong, S. Yiacoumi. “*Environmental Science & Technology*”, 1997, 31, 1433-1439.
- [9] V.K. Gupta, R. Prasad, A. Kumar. “*Journal of Applied Electrochemistry*”, 2003, 33, 381-386.
- [10] V.K. Gupta, R.N. Goyal, N. Bachheti, L.P. Singh, S. Agarwal. “*Talanta*”, 2005, 68, 193-197.
- [11] M.M. Ardakani, M. Salavati-Niasari, M.K. Kashani, S.M. Ghoreishi. “*Analytical and Bioanalytical Chemistry*”, 2004, 378, 1659-1665.
- [12] J.E. Ferguson. “*The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects*” Ed. Pergamon Press, Oxford 1990.
- [13] E. Berman. “*Toxic metals and their analysis*” Ed. Heyden, Londres, 1980.
- [14] M. F. Mousavi, M.B. Barzegar, S. Sahari, “*Sensors and Actuators B*”, 2001, 73, 199-204.
- [15] Y. Yin, H. E. Allen, C.P. Huang, P. F. Sanders. “*Analytica Chimica Acta*”, 1997, 341, 73-82.

- [16] K. Xia, U.L. Skyllberg, W.F. Bleam, P.R. Bloom, E.A. Nater, P.A. Helmke. "*Environmental Sciencie & Technology*", 1999, 33, 257-261.
- [17] D. Hesterberg, J.W. Chou, K.J. Hutchison, D. E. Sayers. "*Environmental Sciencie & Technology*", 2001, 35, 2741-2745.
- [18] M. Haitzer, G. R. Aiken, J. N. Ryan. "*Environmental Sciencie & Technology*", 2003, 37, 2436-2441.
- [19] R.T. Drexel, M. Haitzer, J.N. Ryan, G.R. Aiken, K.L. Nagy. "*Environmental Sciencie & Technology*", 2002, 36, 4058-4064.
- [20] L.P. Singh, J.M. Bhatnagar. "*Talanta*", 2004, 64, 313-319.
- [21] K.C. Gupta, M. J. D'Arc. "*Sensors and Actuators B*", 2000, 62, 171-176.
- [22] K.C. Gupta, M. J D'Arc. "*Analytica Chimica Acta*", 2001, 437, 199-216.
- [23] V.K. Gupta, R. Prasad, A. Kumar. "*Talanta*", 2003, 60, 149-160.
- [24] A.K. Jain, V.K. Gupta, L.P. Singh, J.R. Raisonni. "*Talanta*", 2005, 66, 1355-1361.
- [25] M. Pleniceanu, M. Preda, N. Huresam, L. Simoiu. "*Analytical Letters*", 1996, 29, 1485-1496.
- [26] M.R. Al-Saraj, S. M. Saadeh, M.S. Abdel-Latif. "*Analytical Letters*", 2003, 36, 2417-2426.
- [27] M. R. Ganjali, T. Poursaberi, L.H. Babaei, S. Rouhani, M. Yousefi, M. Kargar-Razi, A. Moghimi, H. Aghabozorg, M. Shamsipur. "*Analytica Chimica Acta*", 2001, 440, 81-87.
- [28] A.R. Fakhari, T.A. Raji, H. Naemi. "*Sensors and Actuators B*", 2005, 104, 317-323.
- [29] S. Sadeghi, M. Eslahi, M.A. Naseri, H. Naeimi, H. Sharghi, A. Shameli. "*Electroanalysis*", 2003, 15, 1327-1333.
- [30] A. Abbaspour, M.A. Kamyabi. "*Analytica Chimica Acta*", 2002, 455, 225-231.
- [31] M. B. Gholivand, N. Nozari. "*Talanta*", 2001, 54, 597-602.
- [32] S. Kamata, A. Bhale, Y. Fukunaga, H. Murata. "*Analytical Chemistry*", 1988, 60, 2464-2467.
- [33] M. Shamsipur, M. Javanbakht, M.F. Mousavi, M.R. Ganjali, V. Lippolis, A. Garau, L. Tei. "*Talanta*", 2001, 55, 1047-1054.

- [34] S. Kamata, K. Yamasaki, M. Higo, A. Bhale, Y. Fukunaga. "*Analyst*", 1988, 113, 45-47.
- [35] S.J. Park, O.J. Shon, J.A. Rim, J. K. Lee, J.S. Kim, H. Nam, H. Kim. "*Talanta*", 2001, 55, 297-304.
- [36] S.S.M. Hassan, E.M. Elenemma, A.H.K. Mohamed. "*Talanta*", 2005, 66, 1034-1041.
- [37] S. Yoshimoto, H. Mukai, T. Gitano, Y. Sohrin. "*Analytica Chimica Acta*", 2003, 494, 207-213.
- [38] J. Komljenovic, V. Martinac, N. Radic. "*Analytica Chimica Acta*", 1990, 231, 137-141.
- [39] M. Neshkova. "*Analytica Chimica Acta*", 1993, 273, 255-265.
- [40] Z. Chen and P.W. Alexander. "*Electroanalysis*", 1997, 9, 141-144.
- [41] Z. Chen and P.W. Alexander. "*Electroanalysis*", 1997, 9, 818-821.
- [42] C.Q. Sun, Y.P. Sun, Y. Zhang, H.D. Xu, J.C. Shen. "*Analytica Chimica Acta*", 1995, 312, 207-212.
- [43] M.J. Gismera, M.A. Mendiola, J.R. Procopio, M.T. Sevilla. "*Analytica Chimica Acta*", 1999, 385, 143-149.
- [44] A. Abbaspour, S.M.M. Moosavi. "*Talanta*", 2002, 56, 91-96.
- [45] J. Lu, R. Chen, X. He. "*Journal of Electroanalytical Chemistry*", 2002, 528, 33-38.
- [46] F. Cadogan, P. Kane, M. A. McKervey, D. Diamond. "*Analytical Chemistry*", 1999, 71, 5544-5550.
- [47] V. K. Gupta, R. Mangla, S. Agarwal. "*Electroanalysis*", 2002, 14, 1127-1132.
- [48] V. S. Bhat, V. S. Ijeri, A. K. Srivastava. "*Sensor and Actuators B*", 2004, 99, 98-105.
- [49] M. R. Ganjali, M. Hosseini, F. Basiripour, M. Javanbakht, O. R. Hashemi, M. F. Rastegar, M. Shamsipur, G. W. Buchanan. "*Analytica Chimica Acta*", 2002, 464, 181-186.
- [50] M. F. Mousavi, S. Sahari, N. Alizadeh, M. Shamsipur. "*Analytica Chimica Acta*", 2000, 414, 189-194.
- [51] C. C. Su, M. C. Chang, I. K. Liu. "*Analytica Chimica Acta*", 2001, 432, 261-267.
- [52] X. Yang, N. Kumar, H. Chi, D. B. Hibbert, P. W. Alexander. "*Electroanalysis*", 1997, 9, 549-553.

- [53] S. R. Sheen, J. S. Shih. "*Analyst*", 1992, 117, 1691-1695.
- [54] M. M. Ardakani, A. A. Ensafi, H. Naeimi, A. Dastanpour, A. Shamlli. "*Sensors and Actuators B*", 2003, 96, 441-445.
- [55] T. Jeong, H.K. Lee, D.C. Jeong, S. Jeon. "*Talanta*", 2005, 65, 543-548.
- [56] S. Sadeghi, G. R. Dashti, M. Shamsipur. "*Sensors and Actuators B*", 2002, 81, 223-228.
- [57] D. Xu, T. Katsu. "*Talanta*", 2000, 51, 365-371.
- [58] S. Kamata, K. Onoyama. "*Analytical Chemistry*", 1991, 63, 1295-1298.
- [59] M. M. Zareh, A. K. Ghoneim, M. H. A. El-Aziz. "*Talanta*", 2001, 54, 1049-1057.
- [60] S. Riahi, M. F. Mousavi, M. Shamsipur, H. Sharghi. "*Electroanalysis*", 2003, 15, 1561-1565.
- [61] M. B. Gholivand, A. Mohammadi. "*Chemia Analityczna (Warsaw, Poland)*", 2003, 48, 305-312.
- [62] S. S. M. Hassan, M. H. A. Ghalia, A. G. E. Amr, A. H. K. Mohamed. "*Talanta*", 2003, 60, 81-91.
- [63] H.K. Lee, K. Song, H.R. Seo, Y.K. Choi, S. Jeon. "*Sensors and Actuators B*", 2004, 99, 323-329.
- [64] A. Abbaspour, F. Tavalok. "*Analytica Chimica Acta*", 1999, 378, 145-149.
- [65] M.M. Ardakani, M.K. Kashani, M. Salavati-Niasari, A.A. Ensafi. "*Sensors and Actuators B*", 2005, 107, 438-445.
- [66] V.K. Gupta, S. Chandra, H. Lang. "*Talanta*", 2005, 66, 575-580.
- [67] M.N. Abbas, G.A.E. Mostafa. "*Analytica Chimica Acta*", 2003, 478, 329-335.
- [68] R.K. Mahajan, R. Kaur, V. Sharma, M. Kumar. "*Analytical Sciences*", 2004, 20, 811-814.
- [69] J. Lu, X. Tong, X. He. "*Journal of Electroanalytical Chemistry*", 2003, 540, 111-117.
- [70] M. Javanbakht, M. Reza Ganjali, H. Eshghi, H. Sharghi, M. Shamsipur. "*Electroanalysis*", 1999, 11, 81-84.
- [71] A.R. Fakhari, M.R. Ganjali, M. Shamsipur. "*Analytical Chemistry*", 1997, 69, 3693-3696.

- [72] L. Xu, R. Yuan, Y. Chai. "*Chemistry Letters*", 2005, 34, 440-441.
- [73] M.H. Mashhadizadeh, I. Sheikhshoaie. "*Talanta*", 2003, 60, 73-80.
- [74] A.K. Singh, G. Bhattacharjee, R. Singh. "*Sensors and Actuators B*", 2004, 99, 36-41.
- [75] A.K. Jain, S.M. Sondhi, V.K. Sharma. "*Electroanalysis*", 2000, 12, 301-305.
- [76] R.K. Mahajan, I. Kaur, T.S. Lobana. "*Talanta*", 2003, 59, 101-105.
- [77] M. Bagheri, M.H. Mashhadizadeh, S. Razee, A. Momeni. "*Electroanalysis*", 2003, 15, 1824-1829.
- [78] S.S.M. Hassan, M.B. Saleh, A.A.A. Gaber, R.A.H. Mekheimer, N.A.A. Kream. "*Talanta*", 2000, 53, 285-293.
- [79] L. Perez-Marín, E. Otazo-Sánchez, G. Macedo-Miranda, P. Avila-Pérez, J. Alonso-Chamarro, H. López-Valdivia. "*Analyst*", 2000, 125, 1787-1790.
- [80] M. Mazloum, M.K. Amini, I. Mohammadpoor-Baltork. "*Sensors and Actuators B*", 2000, 63, 80-85.
- [81] Z. Gao, X. Zhov, G. Wang, P. Li, Z. Zhao. "*Analytica Chimica Acta*" 1991, 244, 39-48.
- [82] IUPAC. "*Pure & Applied Chemistry*", 1998, 70, 1301-1318.
- [83] R.W. Murray "*Chemical Modified Electrode*" vol 13 in "*Electroanalytical Chemistry*" (A.J. Bard) Marcel Dekker, New York, 1984.
- [84] S. Mesaric, E.A.M.F. Dahmen. "*Analytica Chimica Acta*", 1973, 64, 431-438.
- [85] J. Jezkova, J. Musilova, K. Vytras. "*Electroanalysis*", 1997, 9, 1433-1436.
- [86] J. Wang, Z. Taha, N. Naser. "*Talanta*", 1991, 38, 81-88.
- [87] J. Labuda, M. Hudakova. "*Electroanalysis*", 1997, 9, 239-242.
- [88] J. Labuda, M. Buckova, L. Halamova. "*Electroanalysis*", 1997, 9, 1129-1131.
- [89] C. Wang, B. Zhu, H. Li. "*Electroanalysis*", 1999, 11, 183-187.
- [90] R.P. Baldwin, J.K. Christensen, L. Kryger. "*Analytical Chemistry*", 1986, 58, 1790-1798.
- [91] Q. Cai, S.B. Khoo. "*The Analyst*", 1995, 120, 1047-1053.

- [92] M.F. Mousavi , A. Rahmani , S.M. Golabi, M. Shamsipur, H. Sharghi. “*Talanta*”, 2001, 55, 305-312.
- [93] A. Safavi, M. Pakniat, N. Maleki. “*Analytica Chimica Acta*”, 1996, 335, 275-282.
- [94] H. Alemu, B.S. Chandravanshi. “*Analytica Chimica Acta*”, 1998, 368, 165-173.
- [95] J. Ruiperez, M.A. Mendiola, M.T. Sevilla, J.R. Procopio, L. Hernandez. “*Electroanalysis*”, 2002, 14, 532-539.
- [96] M. Colilla, M.A. Mendiola, J.R. Procopio, M.T. Sevilla. “*Electroanalysis*”, 2005, 17, 933-940.
- [97] J. Wang, B. Greene, C. Morgan, “*Analytica Chimica Acta*”, 1984, 158, 15-22.
- [98] M.M. Ortiz-Viana, M.P. da Silva, R. Agraz, J.R. Procopio, M.T. Sevilla, L. Hernandez. “*Analytica Chimica Acta*”, 1999, 382, 179-188.
- [99] X. Hu, Z. Leng. “*Analytical Letters*”, 1995, 28, 979-989.
- [100] M.F.S. Teixeira, T.G.E. Cavaleiro, F.M. Bergamini, F.C. Moraes, N. Bocchi. “*Electroanalysis*”, 2004, 16, 633-639.
- [101] P.S. Gonzalez, C.A. Montan, V.A. Cortínez. “*Talanta*”, 1997, 44, 23-30.
- [102] J.H. Pei, Q. Yin, J.Y. Zhong. “*Talanta*”, 1991, 38, 1185-1189.
- [103] H. Ibrahim. “*Analytica Chimica Acta*”, 2005, 545, 158-165.
- [104] K. Vytras, E. Khaled, J. Jezkova, H.N.A. Hassan, B.N. Barsoum. “*Fresenius’ Journal of Analytical Chemistry*”, 2000, 367, 203-207.
- [105] M.N.E. Abbas. “*Analytical Sciences*”, 2003, 19, 229-233.
- [106] M. Shamsipur, A. Soleymanpour, M. Akhond, H. Sharghi, M.A. Naseri. “*Analytica Chimica Acta*”, 2001, 450, 37-44.
- [107] M. Shamsipur, S. Ershad, S. Naser, A. Moghimi, H. Aghabozorg. “*Journal of Solid State Electrochemistry*”, 2005, 9, 788-793.
- [108] M.K. Amini, J.H. Khorasani, S.S. Khaloo, S. Tangestaninejad. “*Analytical Biochemistry*”, 2003, 320, 32-38.
- [109] M.K. Amini, S. Shahrokhian, S. Tangestaninejad, V. Mirkhani, “*Analytical Biochemistry*”, 2001, 290, 277-282.
- [110] X. Hu, Z. Leng. “*Analytical Letters*”, 1995, 28, 2263-2274.



- [111] S.I.M. Zayed. "*Analytical Sciences*", 2004, 20, 1043-1048.
- [112] C.S. Mendoza, S. Kamata, M. Kawaminami. "*Analytical Sciences*", 1997, 13, 517-518.
- [113] B. Johansson, Z. Stankiewicz, "*Biochemical Pharmacology*", 1985, 34, 2989-2991.
- [114] A. Orkarsson, "*Toxicology letters*" 1987, 36, 73-79.
- [115] B.B. Mohapatra, B.K. Mohapatra, S. Guru. "*Journal of the Indian Chemical Society*", 1977, 54, 361-362.
- [116] A.N. Kumar, H.L. Nigam, T.D. Seth. "*Journal of the Pipeline Division, American Society of Civil Engineers*", 1966, 12, 93-96.
- [117] N.S. Al-Niaimi, B.M. Al-Saadi. "*Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*", 1974, 36, 1617-1622.
- [118] Y. Anjaneyulu, R. Prabhakara Rao, R.Y. Swamy. "*Indian Journal of Chemistry*", 1985, 24A, 622-623.
- [119] C. Nair, H.L. Nigam. "*Indian Journal of Chemistry*", 1974, 12, 769-770.
- [120] T. Subrahmanyam. "*Journal of the Indian Chemical Society*", 1988, 65, 589-590.
- [121] M.S. Abu-Bakr. "*Monatshefte für Chemie*", 1997, 128, 563-570.
- [122] T. Subrahmanyam. "*Journal of the Indian Chemical Society*", 1986, 63, 1068-1069.
- [123] M.G. Bhowon, S. Jhaumeer-Laulloo, P. Rungasami. "*Asian Journal of Chemistry*", 2003, 15, 1008-1012.
- [124] F.J. Stevenson, "*Humus Chemistry*", John Wiley and Son, New York, 1994.
- [125] H.M.V.M. Soares, S.C. Pinho, M.G.R.T.M. Barros. "*Electroanalysis*", 1999, 11, 1312-1317.
- [126] M.T.S.D. Vasconcelos, M.A.G.O. Azenha, O.M. Lage. "*Analytical Biochemistry*", 1996, 241, 248-253.
- [127] M.T.S.D. Vasconcelos, C.M.R. Almeida. "*Analytica Chimica Acta*", 1998, 369, 115-122.
- [128] M.T.S.D. Vasconcelos, M.A.G.O. Azenha, C.M.R. Almeida. "*Analytical Biochemistry*", 1998, 265, 193-201.
- [129] C. Whitworth, G.K. Pagenkopf. "*Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*", 1979, 41, 317-321.

- [130] M.M. Souza Sierra, K. Arend, A. Neves Fernandez, M. Giovanela, B. Szpoganicz. "*Analytica Chimica Acta*", 2001, 445, 89-98.
- [131] S.K. Srivastava, V.K. Gupta, S. Jain. "*Electroanalysis*", 1996, 8, 938-940.
- [132] E. Pungor. "*Fresenius Journal of Analytical Chemistry*", 1997, 357, 184-188.
- [133] T.R. Berube, R.P. Buck., E. Linder, M. Gratzl, E. Pungor. "Analytical Chemistry", 1989, 61, 453-458.
- [134] K. Suzuki, K. Tohba, H. Aruga, M. Matsuzoe, H. Inoue, T. Shirai. "*Analytical Chemistry*", 1988, 60, 1714-1721.
- [135] S. Amemiya, P. Buhlmann, Y. Umezawa. "*Analytical Chemistry*", 1998, 70, 445-454.
- [136] M. Maj-Zurawska, T. Sokalski, A. Hulanicki. "*Talanta*", 1988, 35, 281- 286.
- [137] E. Bakker. "*Analytical Chemistry*", 1997, 69, 1061-1069.
- [138] B. Fu, E. Bakker, J.H. Yun, V.C. Yang, M.E. Meyerhoff. "*Analytical Chemistry*", 1994, 66, 2250-2259.
- [139] E. Lindner, K. Toth, E. Pungir, F. Behm, P. Oggenfuss, D.H. Welti, D. Ammann, W.E. Morf, E. Pretsch, W. Simon. "*Analytical Chemistry*", 1984, 56, 1127-1131.
- [140] M. Shamsipur, J. Tashkhourian, B. Hemmateenejad, H. Sharghi. "*Talanta*" 2004, 64, 590-596.
- [141] A.E. Martell, R.J. Motekaitis. "*Determination and Use of Stability Constants*", Segunda Edición, Ed. VCH, 1992.
- [142] N.S. Al-Niami, B.M. Al-Saadi. "*Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*", 1974, 36, 1617-1622.
- [143] R.S. Ramakrishna, M.E. Fernandopulle. "*Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*", 1971, 33, 1940-1942.
- [144] Z. Fijalek, K. Sarna, A. Piwonska. "*Analytical Letters*", 2000, 33, 1293-1307.
- [145] L. Chen, H. Ju, X. Zeng, X. He, Z. Zhang. "*Analytica Chimica Acta*", 2001, 437, 191-197.
- [146] C.E. Koenig, E.W. Grabner. "*Electroanalysis*", 1995, 7, 1090-1094.
- [147] M.B. Saleh. "*Analyst*", 2000, 125, 179-183.
- [148] K. Suzuki, K. Tohba, H. Sasakura, T. Shirai. "*Analytical Letters*", 1987, 20, 39-45.

- [149] K. Suzuki, K. Tohba. *"Trend Analytical Chemistry"*, 1993, 12, 287-296.
- [150] Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato. *"Pure & Applied Chemistry"*, 1995, 67, 507-518.
- [151] K. Srinivasan, G.A. Rechnitz. *"Analytical Chemistry"*, 1969, 41, 1203-1208.
- [152] V.P.Y. Gadzekpo, G.D. Christian. *"Analytica Chimica Acta"*, 1984, 164, 279-282.
- [153] A.A. Khan, M.M. Alam. *"Analytica Chimica Acta"*, 2004, 504, 253-264.
- [154] G. Eisenman, D.O. Rudin, J.U. Casby. *"Science"*, 1957, 126, 831-834.
- [155] *"Stability Constants of Metal-Ion Complexes"*. Special Publication n° 25, Ed The Chemical Society, London.
- [156] K. Kalcher, I. Grabec, G. Raber, X. Cai, G. Tavcar, B. Ogorevc. *"Journal of Electroanalytical Chemistry"*, 1995, 386, 149-156.
- [157] BUCK Scientific. *"Determination of Wear Metals and Additives (Soaps) in Lubricating Oils by Atomic Absorption"*. Application Note #AA3005A.
- [158] T. McKenzie. *"Atomic Absorption Spectrophotometry for the Análisis of Wear Metals in Oil Samples"*, Varian Instrument at Work, Enero 1981.
- [159] P.G.C. Campbell. *"Interaction between trace metals and aquatic organism: a critique of the free-ion activity model"* en *"Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems"* (A. Tessier, D.R. Turner). Ed. John Wiley and Sons, 1995.
- [160] P. Lubal, D. Siroky, D. Fetsch, J. Havel. *"Talanta"*, 1998, 47, 401-412.
- [161] G.K. Brown, S.E. Cabaniss, P. MacCarthy, J.A. Leenher. *"Analytica Chimica Acta"*, 1999, 402, 183-193.
- [162] T.F. Rozan, G. Benoit, H. Marsh, Y. Chin. *"Environmetal Sciencie & Technology"*, 1999, 33, 1766-1770.
- [163] R. Serra, F. Mass, J.M. Díaz-Cruz, C. Ariño, M. Esteban. *"Electroanalysis"*, 2000, 12, 60-65.
- [164] M.T.S.D. Vasconcelos, A.A.S.C. Machado, F. Rey. *"Anales de Quimica"*, 1996, 92, 243-248.
- [165] B.M. Bartschat, S.E. Cabaniss, F.M.M. Morel. *"Environmetal Sciencie & Technology"*, 1992, 26, 284-294.

- [166] J.P. Pinheiro, A.M. Mota, M.L.S. Goncalves. “*Analytica Chimica Acta*”, 1994, 284, 525-537.
- [167] M. Klavins, L. Eglite, J. Serzane. “*Critical Reviews in Analytical Chemistry*”, 1999, 29, 187-193.
- [168] J. Buffle, F.L. Greter, W. Heardi. “*Analytical Chemistry*”, 1977, 49, 216-222.
- [169] G. Scatchard, “*Annals of the New York Academy of Sciences*”, 1949, 51, 660-672.
- [170] W.T. Bresnahan, C.L. Grant, J.H. Weber. “*Analytical Chemistry*”, 1978, 50, 1675-1679.
- [171] M.T. Vasconcelos, M. Azenha, V. Freitas. “*Journal of Agricultural and Food Chemistry*”, 1999, 47, 2791-2796.
- [172] N.D. Bryan, V.J. Robinson, F.R. Livens, N. Hesketh, M.N. Jones, J. R. Lead. “*Geochimica et Cosmochimica Acta*”, 1997, 61, 805-820.
- [173] C. Plaza, V. D’Orazio, N. Senesi. “*Geoderma*”, 2005, 125, 177-186.
- [174] A.G.S. Prado, C. Airoidi. “*Thermochimica Acta*”, 2003, 405, 287-292.
- [175] E.J.M. Temminghoff, S.E.A.T.M. Van der Zee, F.A.M. de Haan. “*Environmental Science & Technology*”, 1997, 31, 1109-1115.
- [176] M.P. Pitluck, B.D. Pollard, D.T. Haworth. “*Journal of Liquid Chromatography*”, 1987, 10, 2081-2103.
- [177] R. Mandal, M.S. Salam, C. L. Chakrabarti, M.H. Back. “*Electroanalysis*”, 2003, 15, 903-906.
- [178] R.M. Sterrit, J.N. Lester. “*Water Residual*”, 1984, 18, 1149-1153.
- [179] M. Haitzer, G.R. Aiken, J.N. Ryan. “*Environmental Science & Technology*”, 2002, 36, 3564-3570.
- [180] A.R. Khwaja, P.R. Bloom, P.L. Brezonik. “*Environmental Science & Technology*”, 2006, 40, 844-849.
- [181] X. Yang, D.B. Hibbert, P. Alexander. “*Talanta*”, 1997, 45, 155-165.
- [182] E. Wang, S. Kamata. “*Analytica Chimica Acta*”, 1992, 261, 399-404.
- [183] H. Karami, M.F. Mousavi, M. Shamsipur “*Talanta*”, 2003, 60, 775-786.
- [184] L.K. Shpigun. “*Special Publication Royal Society of Chemistry*”, 1994, 154, 246-272.

- [185] M. Trojanowicz, M. Szewczynska, M. Wcislo. "*Electroanalysis*", 2003, 15, 347-365.
- [186] M. Valcarcel Cases, M.D. Luque de Castro. "*Análisis por Inyección en Flujo*". Dpto. de Química Analítica de la Universidad de Córdoba, Publicaciones del Monte de Piedad y Caja de Ahorros de Córdoba, 1984.
- [187] S.S. Badawy, A.F. Youssef, A.A. Mutair. "*Analytica Chimica Acta*", 2004, 511, 207-214.
- [188] K. Stulik, V. Pacakova. "*Electroanalytical measurements in flowing liquids*". Ed. John Wiley & Son, Ellis Horwood Limited, 1987.
- [189] J. Gallardo, S. Alegret, R. Muñoz, M. De-Roman, L. Leija, P.R. Hernández, M. del Valle. "*Analytical and Bioanalytical Chemistry*", 2003, 377, 248-256.
- [190] J.W. Gardner, P.N. Bartlett. "*Sensors and Actuators B*", 1994, 18, 211-220.
- [191] F. Winkvist, P. Wide, I. Lundström. "*Analytica Chimica Acta*", 1997, 357, 21-31.
- [192] Y. Vlasov, A. Legin, A. Rudnitskaya. "*Analytical and Bioanalytical Chemistry*", 2002, 373, 136-146.
- [193] Y. Vlasov, A. Legin, A. Rudnitskaya. "*Sensors and Actuators B*", 1997, 44, 532-537.
- [194] Y.G. Mourzina, J. Schubert, W. Zander, A. Legin, Y.G. Vlasov, H. Lüth, M.J. Schöning. "*Electrochimica Acta*", 2001, 47, 251-258.
- [195] M. George, W.J. Parak, H.E. Gaub. "*Sensors and Actuators B*", 2000, 69, 266-275.
- [196] J. Mortensen, A. Legin, A. Ipatov, A. Rudnitskaya, Y. Vlasov, K. Hjuler. "*Analytica Chimica Acta*", 2000, 403, 273-277.
- [197] F. Sales, M.P. Callao, F.X. Rius. "*Analyst*", 1999, 124, 1045-1051.
- [198] F. Sales, M.P. Callao, F.X. Rius. "*Analyst*", 2000, 125, 883-888.
- [199] J. Saurina, E. López-Aviles, A. Le Moal, S. Hernández-Cassou. "*Analytica Chimica Acta*", 2002, 464, 89-98.
- [200] K.C. Dimitrakopoulos, T. Dimitrakopoulos. "*Electroanalysis*", 2001, 13, 161-163.
- [201] A. Rudnitskaya, A. Ehlert, A. Legin, Y. Vlasov, S. Büttgenbach. "*Talanta*", 2001, 55, 425-431.
- [202] J. Gallardo, S. Alegret, M. del Valle. "*Sensors and Actuators B*", 2004, 101, 72-80.
- [203] A. Legin, A. Smirnova, A. Rudnitskaya, L. Lvova, E. Suglobova, Y. Vlasov. "*Analytica Chimica Acta*", 1999, 385, 131-135.

- [204] A. Legin, A. Rudnitskaya, B. Seleznev, Y. Vlasov. “*International Journal of Food and Science Technology*”, 2002, 37, 375-385.
- [205] K. Esbensen, D. Kirsanov, A. Legin, A. Rudnitskaya, J. Mortensen, J. Pedersen, L. Vognsen, Makarychev-Mikhailov, Y. Vlasov. “*Analytical and Bioanalytical Chemistry*”, 2004, 378, 391-395.
- [206] C. Di Natale, R. Paolesse, M. Burgio, E. Martinelli, G. Pennazza, A. D’Amico. “*Analytica Chimica Acta*”, 2004, 513, 49-56.
- [207] G. Ramis Ramos, M.C. García Álvarez-Coque. “*Quimiometría*” Ed. Síntesis, 2001.
- [208] C. Krantz-Rülcker, M. Stenberg, F. Winqvist, I. Lundström. “*Analytica Chimica Acta*”, 2001, 426, 217-226.
- [209] P. Geladi, B.B. Kowalski. “*Analytica Chimica Acta*”, 1986, 185, 1-17.
- [210] S. Wold, M. Josefson, J. Gottfries, A.J. Linusson. “*Chemometric*”, 2004, 18, 156-165.



